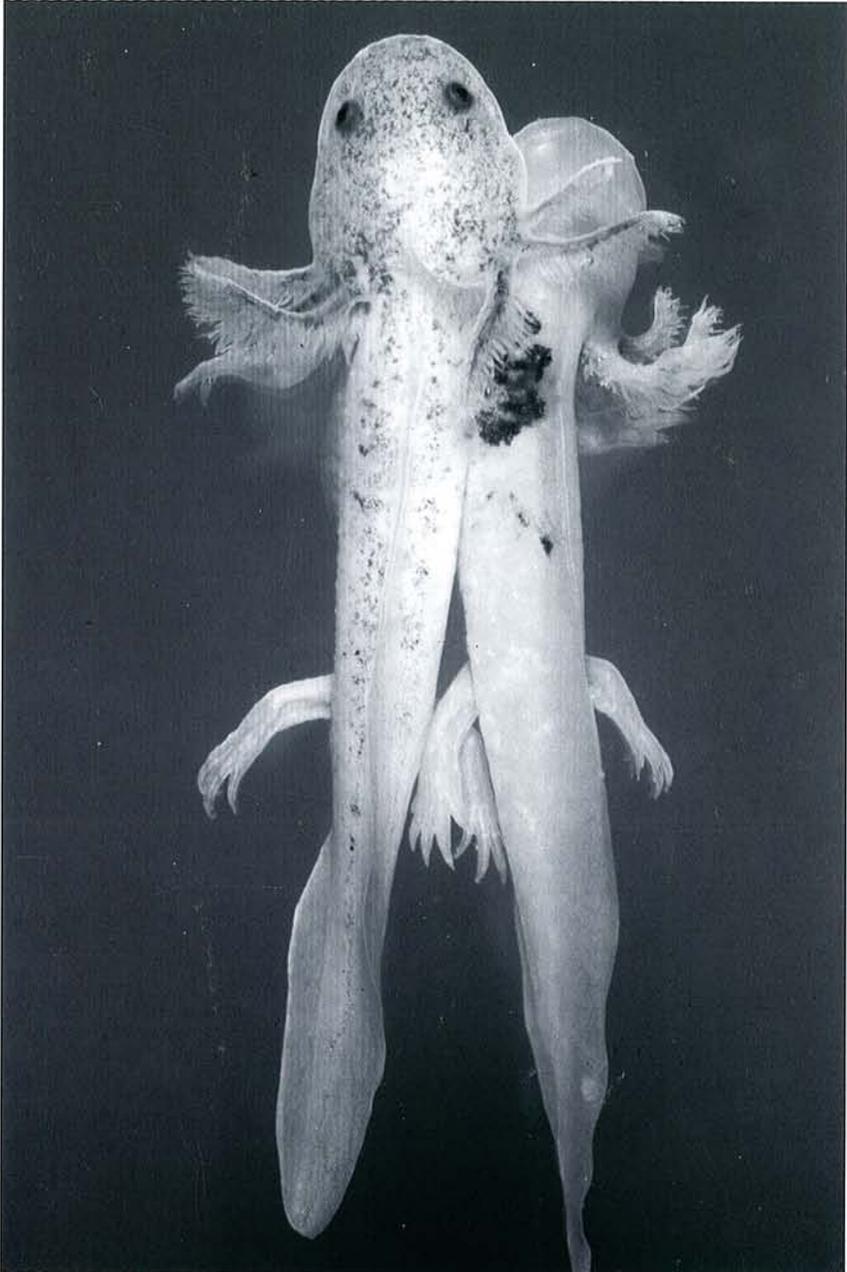


# Bulletin de la Société Herpétologique de France

2<sup>e</sup> trimestre 2002

N° 102



ISSN 0754-9962

Bull. Soc. Herp. Fr. (2002) 102

# Bulletin de la Société Herpétologique de France

N° 102

Directeur de la Publication / Editor : **Roland VERNET**

Comité de Rédaction / **Managing Co-editors** :

Jean LESCURE, Claude PIEAU, Jean-Claude RAGE, Max GOYFFON

Comité de lecture / **Advisory Editorial Board** :

Robert BARBAULT (Paris, France) ; Aaron M. BAUER (Villanova, Pennsylvania) ;  
Liliane BODSON (Liège, Belgique) ; Donald BRADSHAW (Perth, Australie) ; Corinne BOUJOT (Paris,  
France) Maria Helena CAETANO (Lisbonne, Portugal) ; Max GOYFFON (Paris, France) ;  
Robert GUYETANT (Chambéry, France) ; Ulrich JOGER (Darmstadt, Allemagne) ;  
Michael R.K. LAMBERT (Chatham, Angleterre) ; Benedetto LANZA (Florence, Italie) ;  
Raymond LECLAIR (Trois-Rivières, Canada) Guy NAULLEAU (Chizé, France) ;  
Saïd NOUIRA (Tunis, Tunisie) ; V. PEREZ-MELLADO (Salamanque, Espagne) ;  
Armand DE RICQLES (Paris, France) ; Zbynek ROCEK (Prague, Tchécoslovaquie)

## Instructions aux auteurs / Instructions to authors :

Des instructions détaillées ont été publiées dans le numéro 91 (3<sup>ème</sup> trimestre 1999). Les auteurs peuvent s'y reporter. S'ils ne le possèdent pas, ils peuvent en obtenir une copie auprès du responsable du comité de rédaction.

Elles sont également consultables sur le site internet de l'association:

<http://www.societeherpetologiquedefrance.asso.fr>

Les points principaux peuvent être résumés ainsi : les manuscrits, dactylographiés en double interligne, au recto seulement, sont envoyés en triple exemplaire. La disposition du texte doit respecter la présentation de ce numéro. L'adresse de l'auteur se place après le nom de l'auteur (en première page), suivie des résumés et mots-clés en français et en anglais. Les figures sont réalisées sur documents à part, ainsi que les légendes des planches, figures et tableaux. Les références bibliographiques sont regroupées en fin d'article.

Exemple de présentation de référence bibliographique :

Bons J., Cheylan M. & Guillaume C.P. 1984 - Les Reptiles méditerranéens. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 29: 7-17

**Tirés à part** - Les tirés à part (payants) ne sont fournis qu'à la demande des auteurs (lors du renvoi de leurs épreuves corrigées) et seront facturés par le service d'imprimerie. Tous renseignements auprès du trésorier.

La rédaction n'est pas responsable des textes et illustrations publiés qui engagent la seule responsabilité des auteurs. Les indications de tous ordres, données dans les pages rédactionnelles, sont sans but publicitaire et sans engagement.

La reproduction de quelque manière que ce soit, même partielle, des textes, dessins et photographies publiés dans le Bulletin de la Société Herpétologique de France est interdite sans l'accord écrit du directeur de la publication. La S.H.F. se réserve la reproduction et la traduction ainsi que tous les droits y afférant, pour le monde entier. Sauf accord préalable, les documents ne sont pas retournés.

## ENVOI DES MANUSCRITS à partir de 2002 à:

Claude MIAUD, Université de Savoie, UFR Centre Interdisciplinaire Scientifique de la Montagne, UMR CNRS 5553, Laboratoire de Biologie des Populations d'Altitude, 73376 LE BOURGET DU LAC

## ABONNEMENTS 2002 / SUBSCRIPTIONS to SHF Bulletin

France, Europe, Afrique	=	45 Euros
Amérique, Asie, Océanie	=	70 US\$

**To our members in America, Asia or Pacific area** : The SHF Bulletin is a quarterly. Our rates include the airmail postage in order to ensure a prompt delivery.

N° 102

Photos de couverture :

Charles HOUILLON

Parabiose d'*Ambystoma mexicanum*

Shaw (Axolotl) blanc et albinos.

N° commission paritaire: 59374

Imprimeur : S.A.I. Biarritz

Z.I de Mayonnabe 18, allée Marie-Politzer 64200 BIARRITZ

Dépôt légal : 3<sup>ème</sup> trimestre 2002

# LES ANIMAUX VENIMEUX ET VÉNÉNEUX

## SYSTEMATIQUE, BIOLOGIE, TOXICOLOGIE



Année 2002-2003

Renseignements, Inscriptions et Coordination :

Christine ROLLARD

Laboratoire de Zoologie Arthropodes, Muséum,  
61 rue Buffon, 75006 Paris  
T. 01 40 79 35 76 F. 01 40 79 38 63 M. chroll@mnhn.fr

Ivan INEICH

Laboratoire de Zoologie Reptiles, Muséum,  
25 rue Cuvier, 75006 Paris  
T. 01 40 79 34 92

Jean-Philippe CHIPPAUX I.R.D. Dakar, Sénégal

T. (221) 849 35 53 F. M. Jean-philippe.chippaux@ird.sn

Service de la Formation Continue, Muséum, 43 rue Buffon, 75006 Paris  
T. 01 40 79 34 33 ou 38 90

### MODULE II Arthropodes terrestres - Parasites

Responsable du module : M. GUYOTON  
(du Lundi 3 Mars au Vendredi 7 Mars 2003)

**Lundi 3 mars 2003:**

09h00 - 12h00: *Les insectes: hyménoptères piqueurs*  
A. THIBERAULT  
14h00 - 15h30: *Les fourmis*  
J. WEHRESSE, Muséum  
15h45 - 17h30: *Les insectes piqueurs autres que les hyménoptères*  
P. BOURDEAU, ENV, Nantes

**Mardi 4 mars 2003:**

09h00 - 10h30: *Les insectes piqueurs autres que les hyménoptères*  
P. BOURDEAU, ENV, Nantes  
10h45 - 12h00: *Les protozoaires. Les vers parasites. Effets vénimeux*  
P. BOURDEAU, ENV, Nantes  
14h00 - 15h00: *Les acariens: systématique*  
Y. COUDREAU, Muséum  
15h15 - 17h30: *Les acariens: biologie et fonction vénimeuse*  
R. CHIFFOLETTI, ENV, Maison-Alfort

**Mercredi 5 mars 2003:**

09h00 - 12h00: *Les araignées: systématique, biologie, répartition, espèces dangereuses*  
M. L. CUYFFIER, UFR Sciences de la Vie, Paris 6  
14h00 - 15h45: *Venins d'araignées et canaux ioniques*  
S. DIECKHOF, CNRS, Sophia Antipolis  
16h00 - 17h00: *L'arandisme*  
L. GAMBELIN, Angers

**Jedi 6 mars 2003:**

09h00 - 12h30: *Les myriapodes*  
J.J. GUYOTON, Muséum  
14h00 - 17h00: *Les scorpions: systématique, biologie, répartition*  
R. STUCKMANN, UFR Sciences de la Vie, Paris 6

**Vendredi 7 mars 2003:**

09h00 - 10h45: *Les toxines de venins de scorpions*  
M. GUYOTON & P. BOURDEAU, Muséum  
11h00 - 12h30: *Immunologie des toxines de scorpions*  
M. EL AVETI, Institut Pasteur, Tunis  
14h00 - 15h00: *Venins et homéopathie*  
P. MULLER  
15h15 - 16h45: *Le scorpionisme*  
M. GUYOTON, Muséum

### MODULE I Venimologie générale - Vertébrés terrestres

Responsable du module : M. GUYOTON  
(du Lundi 20 Janvier - Vendredi 24 Janvier 2003)

**Lundi 20 janvier 2003:**

09h00 - 09h15: *Accueil*  
09h15 - 10h30: *La fonction vénimeuse*  
C. ROLLARD, Muséum  
10h45 - 12h30: *Nouvelles méthodes d'analyse spectroscopique des venins*  
C. GIETTL, Muséum  
14h00 - 17h00: *Les amphibiens*  
J. LASCURI, Muséum et CNRS

**Mardi 21 janvier 2003:**

09h00 - 10h00: *Les mammifères vénimeux et les oiseaux vénimeux*  
M. TRAMER, Muséum  
10h15 - 12h00: *Les serpents: anatomie de l'appareil vénimeux*  
J.P. GASC, Muséum  
14h00 - 15h15: *Les serpents: systématique moléculaire*  
N. VITALE, Muséum  
15h30 - 17h30: *Les serpents: systématique, biologie, répartition*  
I. INEICH & M. THURBAU, Muséum

**Mercredi 22 janvier 2003:**

09h00 - 12h00: *Composition chimique et mode d'action des venins de serpents venimeux et de reptiles venimeux*  
A. MENEZ, CEA, Gif sur Yvette  
14h00 - 17h00: *Architecture fonctionnelle des toxines animales*  
A. MENEZ, CEA, Gif sur Yvette

**Jedi 23 janvier 2003:**

09h00 - 10h00: *Introduction*  
C. BON, Institut Pasteur, Paris  
10h15 - 12h15: *Actions sur l'hémocoelome*  
C. BON, Institut Pasteur, Paris  
14h00 - 16h00: *Actions neurotoxiques*  
G. FAURE, Institut Pasteur, Paris  
16h15 - 17h30: *Perspectives et prophylaxie*  
C. BON, Institut Pasteur, Paris

**Vendredi 24 janvier 2003:**

09h00 - 12h00: *Toxicité algée des venins, sérum antivenimeux et immunothérapie des envenimations ophidiennes*  
V. CHIFFOLETTI & M. GUYOTON, Institut Pasteur, Paris  
13h45 - 15h15: *Bases de la réanimation dans les envenimations graves*  
P. SAJDI  
15h30 - 17h30: *Les envenimations ophidiennes: épidémiologie, symptomatologie, traitement*  
J.P. CHIPPAUX, IRD & M. GUYOTON, Muséum

### MODULE III Faune marine et écosystèmes marins

Responsable du module : J.-P. FÉRAL  
(du Lundi 14 avril au vendredi 18 avril 2003)

**Lundi 14 avril 2003:**

09h00 - 10h30: *Panorama de la faune vénimeuse et vénéneuse de la mer Méditerranée*  
S. BAHREHJIAN, Montpellier  
10h45 - 12h00: *Les éponges*  
M. GUYOTON, Muséum et CNRS  
14h00 - 17h00: *Les cnidaires*  
M. GUILLET & D. DOUMENC, Muséum

**Mardi 15 avril 2003:**

09h00 - 10h30: *Les mollusques*  
B. MÉTAYER, Muséum  
10h45 - 12h30: *Propriétés chimiques et pharmacologiques des venins de côtes*  
J. MULLER, CNRS, Gif sur Yvette  
14h00 - 17h00: *Les mollusques bivalves toxiques*  
P. LASSUS, IFREMER, Nantes  
16h00 - 17h30: *Les poissons vénimeux*  
P. GHISLAIN, Muséum et CNRS  
F. GOURRY-PYRREFF, UFR Pharmacie, Châtouay-Malabry

**Mercredi 16 avril 2003:**

09h00 - 12h00: *Les poissons vénimeux*  
P. GUYOTON, Muséum et CNRS  
F. GOURRY-PYRREFF, UFR Pharmacie, Châtouay-Malabry  
14h00 - 17h00: *Ichtyotoxines. Toxines ciguatriques et ciguatera*  
P. BOURDEAU, ENV, Nantes

**Jedi 17 avril 2003:**

09h00 - 10h00: *Les annélides*  
C. ROLLARD, Muséum  
10h15 - 12h00: *Les ascidies*  
J.L. D'HONDT, Muséum et CNRS  
14h00 - 15h45: *Les échinodermes*  
N. AMEZIANI, Muséum & J.P. FÉRAL, CNRS, Endoume  
16h00 - 17h00: *Les crustacés toxiques*  
D. GUINDO, Muséum

**Vendredi 18 avril 2003:**

09h00 - 12h00: *Les serpents marins*  
I. INEICH, Muséum  
14h00 - 15h30: *Les bryozoaires: systématique et répartition*  
J.L. D'HONDT, Muséum et CNRS  
15h45 - 16h45: *Les bryozoaires: pathologie médicale et expérimentale*  
M. DUCLOS

# BULLETIN DE LA SOCIETE HERPETOLOGIQUE DE FRANCE

---

2<sup>ème</sup> trimestre 2002

N° 102

---

## SOMMAIRE

- **Formation de tératomes après l'implantation d'embryons dans la cavité générale chez les Amphibiens Urodèles**  
Charles HOUILLON..... 5 - 42
- **The Loggerhead turtle nesting activity in Kuriat islands (Tunisia) in 2001**  
Imed JRIBI, Mohamed Nejmeddine BRADAI & Abderrhmen BOUAIN..... 43 - 47
- **Note sur le statut et la répartition de quelques Leptotyphlopidae (Serpentes, Scolecophidia) du Sahara et des savanes d'Afrique de l'Ouest.**  
Jean-François TRAPE..... 49 - 62
- **Analyse d'ouvrage.**  
Guy NAULLEAU..... 63 - 64

# BULLETIN DE LA SOCIETE HERPETOLOGIQUE DE FRANCE

---

2<sup>nd</sup> trimester 2002

N° 102

---

## CONTENTS

- **Formation of teratomas from embryos implanted in the coelomic cavity of Urodele Amphibians**  
Charles HOUILLON..... 5 - 42
- **The Loggerhead turtle nesting activity in Kuriat islands (Tunisia) in 2001**  
Imed JRIBI, Mohamed Nejmeddine BRADAI & Abderrhmen BOUAIN..... 43 - 47
- **Note on the status and distribution of some Leptotyphlopidae (Serpentes, Scolecophidia) from the Sahara and West Africa savannahs.**  
Jean-François TRAPE..... 49 - 62
- **Analyse d'ouvrage.**  
Guy NAULLEAU..... 63 - 64



## Formation de tératomes après l'implantation d'embryons dans la cavité générale chez les Amphibiens Urodèles

par

Charles HOUILLON

179, boulevard Voltaire, 75011 PARIS

**Résumé** - Des tératomes sont obtenus chez *Pleurodeles waltl* Michah. et chez *Ambystoma mexicanum* Shaw à la suite de l'implantation dans la cavité générale des animaux juvéniles d'embryons de l'une ou de l'autre espèce ainsi que d'embryons de *Triturus alpestris* Laur. Sur 716 animaux opérés, 386 ont été affectés d'un ou de plusieurs tératomes.

Les tumeurs sont classées en trois types d'après le rapport entre leur poids et le poids total de l'hôte: 420 tératomes dont le rapport est inférieur à 1% (type I), 311 tératomes avec un rapport compris entre 1% et 10% (type II) et 142 tératomes dont le rapport est supérieur à 10% (type III).

La formation d'un tératome ne dépend ni de l'âge du receveur ni du stade de l'implant embryonnaire; elle dépend de l'histocompatibilité entre le receveur et l'implant comme pour les allogreffes et les xéno-greffes embryonnaires. Toutes les différenciations histologiques ont été observées avec parfois la présence de pattes. Ces différenciations sont indépendantes de l'âge du receveur et du stade de l'implant. L'ablation d'un tératome de même que la greffe d'un fragment n'entraînent pas la formation d'une nouvelle tumeur. Les volumineux tératomes du type III résulteraient d'une déstabilisation du développement. Leur intense vascularisation, les observations cytologiques ainsi que la cachexie des animaux qui en sont affectés constituent des indices en faveur d'une malignité (tératocarcinomes).

La formation et l'évolution des tératomes expérimentaux chez les Amphibiens Urodèles mériteraient d'être étudiées en fonction de l'expression des gènes du développement.

**Mots clés:** Amphibien Urodèle. Embryon. Histocompatibilité. Implantation. Tératomes allogéniques et xénogéniques. Tératocarcinomes.

**Summary** - Formation of teratomas from embryos implanted in the coelomic cavity of urodele amphibians. Teratomas were produced by intraspecific and interspecific implantation of embryos in the coelomic cavity of urodele amphibians. Hosts were 8 week-to 5 month-old juveniles of *Pleurodeles waltl* Michah. or different strains of *Ambystoma mexicanum* Shaw. Implanted embryos belonged to these two species or to *Triturus alpestris* Laur. ; they were at different stages of development between morula and old tail-bud stage. Teratomas were observed between 2 months and 5 years after implantation. Out of a total of 716 experimental animals, 386 presented teratomas. Since 2 to 6 embryos were implanted together, in many animals several teratomas were formed. By contrast, in other animals only one teratoma was formed due to the aggregation of several embryos. Thus a total of 873 teratomas were analyzed.

The formation of teratoma(s) was related to the degree of histocompatibility between the host and the implant, but was independent of their age. The absence of tumors was generally due to the rejection of the implants. Thus, more allogenic and xenogenic teratomas were formed from *A. mexicanum* than from *P. waltl* and *T. alpestris* implanted embryos. Three types of teratomas could be distinguished, based on the

ratio between the weight of the tumor (TW) and that of the host (HW) before dissection: type I, TW/HW <1%, tumor growth stopped very early (420 teratomas); type II, TW/HW <10%, tumor growth at the same rate as host growth (311 teratomas); type III, TW/HW >10%, tumor growth uncontrolled, destabilized (142 teratomas). All types of cell and tissue differentiation were formed, independent of the species and the developmental stage of the implanted embryos. The most remarkable structures were limbs (74 cases), heart (6 cases) and ovary (2 cases). Thymectomy of the hosts somewhat before implantation of embryos did not increase the frequency of teratomas, probably because it was performed at too late stage. When fragments of teratomas were grafted in normal juvenile animals, they were tolerated but did not form new teratomas.

Some type III teratomas can be considered as malignant (teratocarcinomas) since they were richly vascularized and harbor tissues with nucleus polymorphism, and the host was cachexic. However, after removal of these teratomas, no new tumors were formed, indicating the absence of metastases.

The formation of experimental teratomas in urodele amphibians certainly would be an original and interesting model to study the expression of genes involved in development.

**Key words** - Urodele amphibians. Embryo. Histocompatibility. Implantation. Allogenic and xenogenic teratomas. Teratocarcinomas.

## I. INTRODUCTION

Les tératomes, du grec "tératos", monstre, sont des tumeurs bénignes assez intrigantes par suite de la présence simultanée de cellules différenciées: nerveuses, musculaires, épithéliales, etc... ainsi que de divers tissus comme des fibres musculaires, des tissus conjonctifs, glandulaires, cartilagineux et autres. Ces tumeurs peuvent évoluer vers la malignité pour constituer des tératocarcinomes.

D'une manière générale, la présence de tumeurs malignes spontanées chez les Amphibiens, plus particulièrement chez les Urodèles est peu fréquente (Asashima *et al.* 1987, Tsonis *et al.* 1988). Depuis un demi-siècle que le Pleurodèle est communément élevé comme matériel expérimental, le seul cas rencontré et étudié fut celui d'une tumeur rénale dont la malignité s'accroissait à mesure des transferts successifs durant quatre années (Plaçais 1974). Dans nos élevages d'Axolotls qui ont porté sur plusieurs milliers d'animaux, aucune tumeur maligne naturelle n'a été observée quelles que soient les souches considérées: sauvage noire, blanche ou albinos. De même que les tumeurs naturelles, les tumeurs expérimentales consécutives à l'application de substances cancérigènes sont peu fréquentes (Darquenne 1976, Balls *et al.* 1982, Matz 1982).

Il est assez troublant de constater une sorte de résistance des Urodèles à la tumorigénèse. S'il n'est pas dans notre propos d'en rechercher la cause, du moins peut-on tenter une approche expérimentale qui permettrait d'obtenir commodément certains types de tumeur. A cet effet, des embryons de Pleurodèle ont été implantés dans la cavité générale de jeunes animaux de la même espèce en vue d'obtenir des tératomes au même titre que chez la Souris des tératomes sont obtenus à la suite de l'implantation d'embryons en des sites extra-utérins (Condamine 1980). Les premiers résultats rapportés concernaient la présence de tératomes allogéniques chez 47 Pleurodèles sur 86 animaux qui

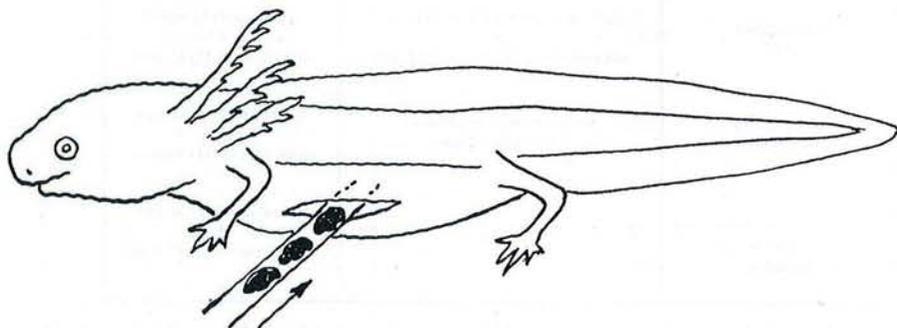
avaient reçu des implants embryonnaires de Pleurodèle (Houillon 1988). Également, la présence de tératomes xénogéniques fut observée chez 56 Pleurodèles sur 94 animaux qui avaient reçu soit des implants embryonnaires d'Axolotl, soit des implants embryonnaires d'Axolotl en même temps que de Pleurodèle (Houillon 1989). Certaines de ces tumeurs allogéniques et xénogéniques ont présenté une croissance incontrôlée, ce qui autorisait de les considérer comme des "tératocarcinomes".

L'objet du présent travail qui repose sur de nombreuses expériences pendant une décennie, est de confirmer sur un plus grand nombre d'animaux les résultats ci-dessus relatifs à *Pleurodeles waltl* Michah. et de les étendre à deux autres espèces d'Urodèles: *Ambystoma mexicanum* Shaw et *Triturus alpestris* Laur. Il s'avère dès lors que des tératomes, parfois très importants, peuvent être communément obtenus chez les Urodèles à la suite de l'implantation d'embryons allogéniques ou xénogéniques dans la cavité générale de jeunes animaux. La présence et l'évolution de ces tumeurs ne dépendent pas de l'âge des animaux receveurs et très peu du stade des implants embryonnaires. Par contre, la fréquence et l'importance des tumeurs dépendent largement de l'histocompatibilité entre le receveur et les implants.

Une telle étude pourrait permettre d'interpréter les tératomes naturels chez les Mammifères et éventuellement leur évolution maligne.

## II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

La technique opératoire destinée à implanter des embryons dans la cavité générale des jeunes Urodèles est simple (fig.1 dans le texte). Les larves ou les jeunes animaux métamorphosés doivent être à jeun depuis plusieurs jours afin



---

**Figure 1:** Schéma de l'inoculation d'embryons allogéniques ou xénogéniques dans la cavité générale d'une larve d'Urodèle en vue d'obtenir la formation de tératomes.

---

d'avoir une certaine vacuité de la cavité générale. Une fois anesthésiés au MS 222, ils sont placés sur un tampon d'ouate humide en vue de pratiquer l'intervention sous la loupe binoculaire aux grossissements 6 ou 10. Une courte

incision pratiquée sur le flanc permet d'inoculer dans la cavité générale, les embryons dégangués en utilisant une pipette de verre calibrée à leur dimension. Selon la taille de l'hôte, deux à six embryons sont inoculés en même temps. Des points de suture sont nécessaires pour refermer l'incision et éviter l'expulsion des implants. L'animal opéré est alors placé pendant un ou deux jours dans la solution opératoire de Steinberg pour la cicatrisation. L'élevage se poursuit dans l'eau ordinaire sans précaution particulière car la mortalité post-opératoire est nulle. La principale précaution est d'éviter l'écrasement des implants embryonnaires particulièrement fragiles aux stades blastula et gastrula bien que le chorion ne soit pas enlevé. C'est notamment pour cette raison que les animaux opérés ne sont nourris que plusieurs jours après l'intervention. Dans certaines séries opératoires les receveurs étaient thymectomisés quelques jours avant l'implantation pour empêcher d'éventuels phénomènes de rejet des implants.

Le tableau I indique les caractéristiques (stade, âge, longueur totale) des animaux receveurs et des embryons implantés. Pour le Pleurodèle, l'âge de 5 mois correspond à des animaux mesurant 70 à 80mm et métamorphosés depuis au moins un mois. Quelques Pleurodèles âgés d'un an (125mm) furent utilisés mais les résultats qui les concernent étant les mêmes que ceux des animaux âgés de 5 mois, ils seront classés dans la même rubrique. Les plus jeunes implants étaient aux stades morula ou blastula, les plus âgés étaient des embryons quelques jours avant l'éclosion.

**Tableau I.** Caractéristiques des animaux receveurs et des implants embryonnaires utilisés pour l'obtention de tératomes expérimentaux chez les Amphibiens Urodèles.

espèces	receveurs	implants embryon.
<i>Pleurodeles waltl</i>	stade larvaire (st.53, 43mm) 8 sem. à métamorphosé(70-125mm) 5-12 mois	morula (st.4) 12 heures à embr. âgés (st.32) 11 jours
<i>Ambystoma mexicanum</i>	stades larvaires (45-85mm) 8 semaines à 5 mois	blastula (st.5) 11 heures à embr. âgés (st.31) 10 jours
<i>Triturus alpestris</i>	néant	gastrula (st.8) 24 heures à embr. jeunes (st.24) 5 jours

Les stades embryonnaires font référence aux tables chronologiques de Gallien et Durocher (1957) pour *Pleurodeles waltl* et de Schreckenberget Jacobson (1975) pour *Ambystoma mexicanum*. Pour *Triturus alpestris*, utilisé seulement comme implant, les stades embryonnaires sont équivalents à ceux du Pleurodèle. Différentes souches d'Axolotl sont employées aussi bien comme receveur que comme implant: souche sauvage noire (phénotype DA), souche blanche (phénotype dA), souches albinos (phénotypes Da et da).

Les embryons les plus vieux sont au stade du bourgeon caudal âgé c'est-à-dire le stade 32 pour le Pleurodèle et le stade 31 pour l'Axolotl. La tête et le bourgeon de queue de ces embryons sont sectionnés et éliminés pour ne garder comme implants que la partie troncale. Celle-ci est laissée quatre à cinq heures dans la solution opératoire pour une cicatrisation partielle avant d'être inoculée. De tels implants sont désignés "éléments embryonnaires" ou "bourgeons caudaux âgés".

En fonction des trois espèces d'Urodèles utilisées, neuf protocoles expérimentaux ont été mis en oeuvre (tab. II): deux protocoles expérimentaux allogéniques lorsque le receveur et les implants appartiennent à la même espèce (par exemple, receveur *P.waltl* et implants *P.waltl*), quatre protocoles expérimentaux xénogéniques lorsque le receveur et les implants n'appartiennent pas à la même espèce (par exemple, receveur *P.waltl* et implants *A.mexicanum*), trois protocoles expérimentaux mixtes lorsque le receveur qui appartient à une espèce reçoit à la fois des implants de la même espèce et d'une autre espèce ou bien des implants de deux espèces différentes (par exemple, receveur *P.waltl* avec implants *A.mexicanum* et *T.alpestris*).

**Tableau II.** Protocoles expérimentaux réalisés: nombres d'animaux opérés et tératomes obtenus. Le nombre de tératomes est indiqué entre "guillemets"; %: rapport entre le nombre de tératomes et le nombre d'animaux opérés. Ce rapport est souvent supérieur à 100% puisque plusieurs embryons étant toujours implantés en même temps, le même animal peut être affecté de plusieurs tératomes. Dans la colonne "nb. anim. avec tératomes", le pourcentage indiqué est celui des animaux affectés de tératomes par rapport aux animaux opérés

Protocole			nb. de séries	nb. anim. opérés	nb. anim. avec tératomes	nb. de tératomes	%
receveur	implant	terminologie					
Pleurodèle	Pleurodèle	P.w"P.w"	46	240	95 (40%)	"174"	72%
Pleurodèle	Axolotl	P.w"Ax"	43	215	136 (63%)	"324"	151%
Pleurodèle	Pleurodèle Axolotl	P.w"P.w+Ax"	16	71	53 (75%)	"133"	187%
Axolotl	Axolotl	Ax"Ax"	20	75	68 (90%)	"175"	233%
Axolotl	Pleurodèle	Ax"P.w"	8	34	4 (12%)	"20"	59%
Axolotl	Axolotl Pleurodèle	Ax"Ax+P.w"	4	10	5 (50%)	"8"	80%
Pleurodèle	T.alpestre	P.w"alp"	8	34	1 (3%)	"1"	3%
Axolotl	T.alpestre	Ax"alp"	7	31	19 (61%)	"27"	87%
Pleurodèle	Axolotl T.alpestre	P.w"Ax+alp"	1	6	5 —	"11"	183%
Total			153	716	386 (54%)	"873"	122%

Un protocole expérimental donné fait l'objet de nombreuses séries opératoires qui dépendent de l'âge du receveur et du stade des implants. Une série opératoire comporte 3 à 7 animaux du même âge qui reçoivent plusieurs embryons au même stade. C'est ainsi que le protocole expérimental allogénique

avec *P.waltl* a fait l'objet de 46 séries opératoires pour un total de 240 animaux opérés. A titre d'exemple, une série opératoire selon ce protocole expérimental comprenait 5 Pleurodèles larvaires du stade 54 qui ont chacun reçu 5 embryons de Pleurodèle en fin de gastrulation (stade 13); dans cette série opératoire particulière, 3 animaux ont été affectés de tératomes.

La terminologie adoptée pour qualifier un protocole expérimental comprend un premier terme qui désigne le receveur (P.w pour *P.waltl*, Ax pour *A.mexicanum* et alp pour *T.alpestris*), puis un second terme entre "guillemets" qui indique l'origine des implants embryonnaires. La même terminologie définit un tératome dans un animal donné. Par exemple, P.w"P.w" est le protocole expérimental allogénique ou un tératome allogénique dont le receveur est le Pleurodèle et l'implant ou le tératome sont également du Pleurodèle; P.w"Ax" est le protocole expérimental xénogénique dont le receveur est le Pleurodèle et l'implant ou le tératome sont de l'Axolotl; P.w"Ax+alp" est le protocole expérimental mixte ou un tératome mixte dont le receveur est le Pleurodèle et les implants ou les tératomes sont de l'Axolotl et du Triton alpestre.

L'ablation des tératomes fut pratiquée à plusieurs occasions, surtout pour les plus volumineux dans l'éventualité où, s'agissant de tumeurs malignes, il y aurait eu des métastases évolutives. L'intervention s'effectue sous la loupe binoculaire après anesthésie des animaux à jeun; elle est assez délicate lorsque les tératomes ont contracté des adhérences très vascularisées dont la section peut entraîner une importante hémorragie.

De nombreux tératomes, isolés au moment de la dissection, ont été pesés afin d'établir un rapport entre leur poids et le poids de l'hôte avant la dissection. Les valeurs ainsi obtenues permettent de classer les tumeurs en trois types selon leur importance relative.

Des tératomes, choisis en particulier parmi les plus volumineux, ont été découpés en plusieurs fragments pour être greffés dans la cavité générale d'animaux juvéniles aux mêmes stades que les receveurs d'implants embryonnaires. Cette intervention avait pour objectif d'obtenir des lignées de tumeurs transplantables.

Enfin l'étude histologique fut systématiquement entreprise pour examiner la nature tissulaire des tératomes et tenter de reconnaître leur bénignité ou leur malignité en fonction de l'origine et du stade des implants embryonnaires. Les tumeurs sont le plus souvent fixées au Bouin-Hollande et les coupes histologiques colorées généralement au glychémalun-éosine.

### III. RÉSULTATS

#### A. Caractères généraux des tératomes

Les neuf protocoles expérimentaux ont fait l'objet de 153 séries opératoires pour un total de 716 animaux qui ont reçu divers implants embryonnaires. Parmi ceux-ci, 386 ont été affectés de tératomes, ce qui correspond à un peu plus de la moitié des animaux opérés (tab. II). Deux à six embryons étant

implantés en même temps, on observe souvent plusieurs tératomes dans la cavité générale du même animal. C'est ainsi que sur les 716 animaux opérés, 386 ont présenté un ou plusieurs tératomes, de sorte que la totalité des tératomes observés (873) est supérieure au nombre d'animaux opérés et à plus forte raison, supérieure au nombre d'animaux affectés de tératomes (tab. II). Tous les pourcentages relatifs aux tératomes, selon l'âge de l'hôte ou selon le stade des implants, seront indiqués par rapport aux nombres d'animaux opérés. De la sorte, les 873 tératomes observés à partir de 716 animaux opérés correspondent à 122% de tumeurs alors que seulement 386 animaux sont affectés de tératomes.

L'observation des tératomes est effectuée au plus tôt, deux mois et au plus tard quatre à cinq années après l'implantation. Durant cette période, il est souvent procédé à des laparotomies. Pour les grosses tumeurs, une simple palpation permet de détecter leur présence; certaines sont déjà palpables quelques mois après l'implantation en particulier celles qui proviennent des implants Axolotls.

Les tératomes n'ont pas de localisation privilégiée dans la cavité générale. Ils adhèrent plus ou moins fortement à la paroi péritonéale, souvent au niveau de l'incision pratiquée pour l'inoculation, de même qu'au niveau des divers mésentères. L'adhérence est plus forte quand ils sont accolés au foie ainsi que sur les viscères et le corps adipeux des gonades. Des tératomes peu volumineux se rencontrent fréquemment coincés dans la région pelvienne.

La vascularisation est intense à la surface et à l'intérieur des gros tératomes. Certains d'entre eux, très vascularisés, sont reliés à l'hôte seulement par un mince tractus qui rappelle un "cordon ombilical" dans lequel s'observe une active circulation artérielle et veineuse. L'ablation de tels tératomes est commode puisqu'à la suite d'une laparotomie, il suffit de cautériser le "cordon ombilical" pour retirer la tumeur.

La consistance des tératomes dépend de la nature des tissus qui les constituent: dure et compacte quand ils renferment du cartilage, assez ferme pour les amas de tissus nerveux ou glandulaires, particulièrement molle pour les vésicules remplies de sérosité ascitique. On remarque parfois d'importantes masses noirâtres qui desquament en minces lambeaux lorsqu'il y a des formations cutanées; il s'agit de mues qui s'accumulent d'autant plus que le tératome est plus âgé. Ces amas de mues sont particulièrement évidents pour les tératomes P.w"Ax": la peau du tératome Axolotl se métamorphose dans l'hôte Pleurodèle et desquame régulièrement.

La présence d'un seul tératome malgré l'inoculation de plusieurs embryons peut provenir soit de l'évolution d'un seul embryon, les autres étant éliminés, soit de l'agrégation de plusieurs embryons. Il s'agit dès lors d'un tératome xénogénique "chimère" ainsi qu'il a été reconnu après l'implantation simultanée d'embryons de deux espèces différentes dans les protocoles expérimentaux mixtes.

Bien que par définition un tératome soit un assemblage anarchique de différents tissus, certains ont une sorte d'"organogenèse" marquée par la

présence de membres bien constitués avec des doigts. Et même, il a été observé 6 cas de tératomes à l'intérieur desquels un coeur battait régulièrement.

Un classement des tératomes a été nécessaire pour rendre compte de leur évolution et de leur volume par rapport à l'hôte. Trois types sont reconnus en fonction du rapport entre le poids de la tumeur et le poids total de l'hôte (animal plus tumeur):

tératomes de type I: leur poids correspond à moins de 1% du poids total de l'hôte. Le volume de ces tumeurs augmente légèrement jusqu'à 6-7 mois pour ensuite rester stable ou n'augmenter que très peu. L'hôte n'est absolument pas affecté par la présence de telles tumeurs;

tératomes de type II: leur poids dépasse rarement 5% du poids total de l'hôte. Leur volume augmente lentement du moins jusqu'à l'âge de 2 ou 3 ans. La croissance de l'hôte est peu ralentie et il ne semble guère affecté par la présence d'une ou de plusieurs de ces tumeurs moyennes puisqu'il peut se reproduire;

tératomes de type III: leur poids qui représente au minimum 10% du poids total de l'hôte, peut atteindre jusqu'à 50%. Le volume de la tumeur ne cesse d'augmenter, sa croissance est incontrôlée. Même s'il s'alimente, l'animal maigrit, la peau devient mince et transparente, l'issue fatale est inéluctable. De telles tumeurs "déstabilisées" pourraient être considérées comme étant des "tératocarcinomes". La déstabilisation qui apparaît le plus souvent environ une année après l'implantation, peut quelquefois se manifester après deux mois.

Pour l'exposé, les neuf protocoles expérimentaux sont regroupés en trois rubriques: l'une pour les receveurs Pleurodèles avec implants Pleurodèles ou Axolotls (P.w"P.w", P.w"Ax" et P.w"P.w+Ax"), une deuxième pour les receveurs Axolotls avec implants Axolotls ou Pleurodèles (Ax"Ax", Ax"P.w" et Ax"Ax+P.w"), et une troisième qui concerne les implants Tritons alpestres dans receveurs Pleurodèles ou Axolotls (P.w"alp", Ax"alp" et P.w"Ax+alp"). L'analyse de chaque protocole est envisagée sous deux aspects: d'abord selon le stade (âge) des receveurs, puis selon le stade des implants.

## **B. Protocoles expérimentaux avec *P.waltl* comme receveurs et implants**

### ***P. waltl* et / ou *A. mexicanum* (tab. III et IV)**

Les trois protocoles expérimentaux dans lesquels des Pleurodèles reçoivent des implants embryonnaires comprennent 105 séries opératoires à partir de 526 animaux dont 284 (un peu plus de la moitié) ont présenté un total de 631 tératomes, soit 120% de tératomes par rapport à l'ensemble des 526 Pleurodèles opérés.

#### **1. Receveurs *P.waltl* et implants *P.waltl* (P.w"P.w": fig.1, 2, 3 planche I et fig. 15 planche III)**

Le protocole expérimental allogénique dans lequel intervient le Pleurodèle avec des implants embryonnaires Pleurodèles a fait l'objet des plus nombreuses investigations. A partir de 46 séries opératoires portant sur 240 animaux, 95

**Tableau III.** Protocoles expérimentaux selon les stades receveurs Pleurodèles. Pour chaque stade, le premier nombre est celui des tératomes et le second nombre, celui des animaux opérés; le pourcentage est le rapport entre ces deux nombres. Dans la partie inférieure du tableau sont indiqués les nombres des trois types de tératomes obtenus à chaque stade des receveurs Pleurodèles. Le nombre total de tératomes est indiqué dans la colonne de droite entre "guillemets"

Protocole	st.53	st.54	st.55a	st.55b+c	5 mois	Total
P.w"P.w"	37-63 59%	69-107 64%	13-30 43%	6-9 66%	49-31 158%	"174"-240 72%
P.w"Ax"	28-18 156%	86-72 119%	25-32 78%	143-65 220%	42-28 150%	"324"-215 151%
P.w"P.w+Ax"	-	31-29 107%	62-30 207%	-	40-12 333%	"133"-71 187%
total	65-81 80%	186-208 89%	100-92 109%	149-74 201%	131-71 185%	"631"-526
type I	25	71	54	83	71	"304"
type II	24	78	33	46	48	"229"
type III	16	37	13	20	12	"98"
total	65	186	100	149	131	"631"

Pleurodèles (40%) ont présenté un total de 174 tératomes, ce qui correspond à 72% de tératomes par rapport aux 240 Pleurodèles opérés.

Les plus jeunes receveurs Pleurodèles sont au stade larvaire 53 (8 semaines, 43mm) et les plus âgés sont métamorphosés depuis environ un mois (4 à 5 mois, 70 à 80mm). Des tératomes se sont formés à tous les stades avec toutefois une proportion légèrement plus élevée pour les receveurs âgés (tab.III).

Le stade des implants embryonnaires Pleurodèles n'intervient dans leur aptitude à évoluer en tératomes que pour les stades jeunes: il y a nettement moins de tératomes à la suite d'implants de blastulas et éventuellement de gastrulas qu'avec les implants des stades plus âgés (tab.IV). Cette observation qui se retrouvera dans les autres protocoles expérimentaux, s'interprète par une plus grande fragilité des jeunes implants soit qu'ils s'écrasent après leur inoculation, soit que leur développement ne se poursuive que difficilement dans la sérosité de la cavité générale.

Les différents types de tératomes et leur fréquence en fonction des receveurs et en fonction des implants, seront envisagés d'une manière globale pour l'ensemble des trois protocoles expérimentaux avec les receveurs Pleurodèles (tab.VII).

**Tableau IV.** Protocoles expérimentaux selon les stades des implants embryonnaires pour les receveurs Pleurodèles. Pour chaque stade, le premier nombre est celui des tératomes et le second nombre, celui des animaux opérés; le pourcentage est le rapport entre ces deux nombres. Dans la partie inférieure du tableau sont indiqués les nombres des trois types de tératomes obtenus avec chaque catégorie d'implants. Le nombre total de tératomes est indiqué dans la colonne de droite entre "guillemets"; b. caud.: bourgeon caudal jeune; élém. emb.: bourgeon caudal âgé (stades 31-32). La colonne de droite du tableau IV est la même que la colonne de droite du tableau III. Un élément embryonnaire (élém. embr.) correspond à la partie troncale d'un embryon du stade 31-32 après l'élimination de la tête et du bourgeon de queue.

protocole	blastula	gastrula	neurula	b. caud.	élém. embr.	total
P.w"P.w"	18-53 34%	60-72 83%	38-37 103%	28-49 57%	30-29 103%	"174"-240 72%
P.w"Ax"	28-53 53%	154-84 183%	47-22 214%	68-35 194%	27-21 129%	"324"-215 151%
P.w"P.w+Ax"	13-3 -	17-18 94%	39-17 229%	64-33 194%	-	"133"-71 187%
total	59-109 54%	231-174 133%	124-76 163%	160-117 137%	57-50 114%	"631"-526
type I	50	130	57	56	11	"304"
type II	7	74	43	74	31	"229"
type III	2	27	24	30	15	"98"
total	59	231	124	160	57	"631"

## 2. Receveurs *P.waltl* et implants *A.mexicanum* (P.w"Ax": fig. 7, 8, 9, 11 et 12, planche II)

Le protocole expérimental xénogénique dans lequel le Pleurodèle reçoit des implants embryonnaires Axolotls, a fait l'objet de 43 séries opératoires portant sur 215 animaux dont 136 (63%) ont présenté un total de 324 tératomes, ce qui correspond à 151% de tératomes par rapport aux 215 Pleurodèles opérés (tab. III et IV). A remarquer le pourcentage important de tératomes dans ce protocole en regard du faible pourcentage dans le protocole précédent. La nature de l'implant, ici l'Axolotl au lieu du Pleurodèle, modifie profondément l'aptitude du receveur Pleurodèle à développer des tératomes. Il y a deux fois plus de tératomes xénogéniques P.w"Ax" (151%) que de tératomes allogéniques P.w"P.w" (72%), de même, il y a plus de Pleurodèles avec des tératomes Axolotls (63%) que de Pleurodèles avec des tératomes Pleurodèles (40%) (tab. II).

Quels qu'ils soient, les stades des hôtes Pleurodèles n'ont pas d'incidence sur la fréquence des tératomes Axolotls (tab. III). Par contre, comme pour les jeunes implants Pleurodèles, les implants de blastulas Axolotls chez le Pleurodèle entraînent moins de tératomes que les implants Axolotls plus âgés (tab. IV). Ainsi se confirme la plus grande fragilité des jeunes implants aussi bien Pleurodèles qu'Axolotls.

Le développement des receveurs Pleurodèles est bien plus perturbé par la présence de tératomes xénogéniques Axolotls que par la présence de tératomes allogéniques Pleurodèles. Ainsi pour les tératomes de type III, le poids moyen des receveurs Pleurodèles dans le protocole xénogénique P.w"Ax" est de 8,2g alors que dans le protocole allogénique P.w"P.w" il est de 20g (tab.VII). D'ailleurs, la présence de gros tératomes P.w"Ax" de type III se discerne déjà quelques mois après l'implantation.

### **3. Receveurs *P.waltl* et implants *P.waltl* plus *A.mexicanum* (P.w"P.w+Ax": fig.18 planche III)**

Le protocole expérimental mixte dans lequel le Pleurodèle reçoit des implants Pleurodèles (3 embryons) en même temps que des implants Axolotls (2 embryons) comprend 16 séries opératoires pour 71 animaux opérés dont 53 (75%) ont présenté un total de 133 tératomes, ce qui correspond à 187% de tératomes par rapport aux 71 Pleurodèles opérés (tab.III et IV).

L'objectif d'un protocole mixte, implants allogéniques et implants xénogéniques, était d'obtenir davantage de tératomes et surtout de prouver l'origine mixte de certaines tumeurs après la fusion de plusieurs implants (tératomes chimères). On remarque effectivement que le pourcentage de tératomes P.w"P.w+Ax" (187%) est nettement supérieur à celui des tératomes P.w"P.w" (72%) ainsi qu'à celui des tératomes P.w"Ax" (151%). Ceci indique également, comme dans le protocole P.w"Ax", que les implants Axolotls provoquent davantage de tératomes que les implants Pleurodèles.

Pour 5 tumeurs de type III, il a été observé des éléments cutanés qui rappelaient la peau pigmentée du Pleurodèle, à côté d'éléments cutanés dépigmentés comme la peau métamorphosée de l'Axolotl albinos. De telles tumeurs attestent d'une manière évidente qu'après l'inoculation de plusieurs embryons dans la cavité générale, certains fusionnent pour ne former qu'une seule tumeur qui, dans le cas présent, est un tératome xénogénique chimère P.w"P.w+Ax".

En fonction du stade des receveurs Pleurodèles, il y a davantage de tératomes à mesure que les hôtes sont plus âgés (tab.III). En fonction du stade des implants, les neurulas et les embryons du stade bourgeon caudal donnent plus de tératomes que les gastrulas et surtout que les blastulas comme dans les protocoles P.w"P.w" et P.w"Ax" (tab.IV).

### **B. Protocoles expérimentaux avec *A.mexicanum* comme receveurs et implants *A.mexicanum* et/ou *P.waltl* (tab.V et VI)**

Les implantations d'embryons dans l'Axolotl bien que moins nombreuses que dans le Pleurodèle, sont tout aussi significatives quant à la formation de tératomes selon la nature des implants. Les trois protocoles expérimentaux concernés comprennent 32 séries opératoires à partir de 119 animaux dont 77 (les deux tiers) ont présenté un total de 203 tératomes, soit 171% de tératomes par rapport à l'ensemble des 119 Axolotls opérés.

**Tableau V.** Protocoles expérimentaux selon les stades receveurs Axolotls. Pour chaque stade, le premier nombre est celui des tératomes et le second nombre, celui des animaux opérés; le pourcentage est le rapport entre ces deux nombres. Dans la partie inférieure du tableau, sont indiqués les nombres des trois types de tératomes obtenus à chaque stade des receveurs Axolotls. Le nombre total de tératomes est indiqué dans la colonne de droite entre "guillemets". Les stades de l'Axolotl sont donnés en semaines (sem.) ou en mois.

protocole	8-10 sem.	12 sem.	14 sem.	4 mois	5 mois	total
Ax"Ax"	15-8 187%	56-28 200%	29-17 171%	9-5 180%	66-17 388%	"175"-75 233%
Ax"P.w"	0-10 -	12-11 109%	-	8-9 89%	0-4 -	"20"-34 59%
Ax"Ax+P.w"	2-3 -	-	-	6-7 -	-	"8"-10 80%
total	17-21 81%	68-39 174%	29-17 171%	23-21 110%	66-21 314%	"203"-119
type I	4	45	9	9	29	"96"
type II	7	10	12	10	28	"67"
type III	6	13	8	4	9	"40"
total	17	68	29	23	66	"203"

### 1. Receveurs *A.mexicanum* et implants *A.mexicanum* (Ax"Ax": fig. 4, 5, 6 planche I et fig.10 planche II)

Le protocole expérimental allogénique dans lequel l'Axolotl reçoit des implants embryonnaires d'Axolotl, a fait l'objet de 20 séries opératoires pour 75 animaux opérés dont 68 (91%) ont présenté un total de 175 tératomes, ce qui correspond à 233% de tératomes par rapport aux 75 Axolotls opérés. A noter le remarquable nombre des tératomes allogéniques Ax"Ax" qui est trois fois plus important que le nombre des tératomes allogéniques P.w"P.w" (72%).

L'âge des receveurs Axolotls qui va de 8 semaines (45mm) à 5 mois (85mm), n'intervient pas dans le pourcentage des tératomes (tab.V). De même le stade des implants Axolotls n'a pas de conséquence sur leur capacité à évoluer en tératomes (tab.VI). A noter cependant qu'il n'y a pas eu d'implantations avec des blastulas ni avec des embryons au stade du bourgeon caudal âgé (éléments embryonnaires) dans ce protocole.

Le tableau VII des types de tératomes conduit aux mêmes constatations pour le protocole avec receveurs Axolotls (Ax"Ax") que pour les protocoles avec receveurs Pleurodèles (P.w"P.w", P.w"Ax" et P.w"P.w+Ax"). On retrouve davantage de tératomes du type I (76 tératomes) que du type II (60 tératomes) et surtout que du type III (39 tératomes). Les poids moyens des tératomes et des hôtes sont légèrement inférieurs pour les receveurs Pleurodèles que les poids moyens pour les receveurs Axolotls, ceci est dû au fait qu'à un âge équivalent, le Pleurodèle a une taille légèrement inférieure à l'Axolotl. Enfin la distinction des trois types de tératomes basée sur le rapport entre le poids des

tumeurs et le poids des hôtes est également bien nette: 0,4% pour le type I, 3,6% pour le type II et 18% pour le type III.

**Tableau VI.** Protocoles expérimentaux selon les stades des implants embryonnaires pour les receveurs Axolotls. Pour chaque stade, le premier nombre est celui des tératomes et le second nombre, celui des animaux opérés; le pourcentage est le rapport entre ces deux nombres. Dans la partie inférieure du tableau sont indiqués les nombres des trois types de tératomes obtenus avec chaque catégorie d'implants. Le nombre total de tératomes est indiqué dans la colonne de droite entre "guillemets"; b. caud.: bourgeon caudal jeune; élém. emb.: bourgeon caudal âgé (stades 31-32). La colonne de droite du tableau VI est la même que la colonne de droite du tableau V.

protocole	blastula	gastrula	neurula	b. caud.	élém. emb.	total
Ax"Ax"	-	127-49 259%	38-15 253%	10-11 91%	-	"175"-75 233%
Ax"P.w"	-	8-17 47%	12-9 133%	0-8 -	-	"20"-34 59%
Ax"Ax+P.w"	-	6-3 -	2-3 -	0-4 -	-	"8"-10 80%
total	-	141-69 204%	52-27 193%	10-23 43%	-	"203"-119
type I	-	58	35	3	-	"96"
type II	-	55	8	4	-	"67"
type III	-	28	9	3	-	"40"
total	-	141	52	10	-	"203"

## 2. Receveurs *A.mexicanum* et implants *P.waltl* (Ax"P.w")

Le protocole expérimental xénogénique dans lequel l'Axolotl reçoit des implants embryonnaires Pleurodèles concerne 8 séries opératoires pour 34 animaux opérés mais dont seulement 4 ont présenté un total de 20 tératomes, soit 59% de tératomes par rapport aux 34 Axolotls opérés. Peu d'opérations ont été réalisées car diverses expériences antérieures relatives aux xéno greffes embryonnaires avaient amplement démontré la faible histocompatibilité entre les receveurs Axolotls et les xéno greffes embryonnaires Pleurodèles (Houillon 2001). On retrouve la même incompatibilité dans le protocole Ax"P.w". A l'inverse, il existe une remarquable histocompatibilité entre les receveurs Pleurodèles et les xéno greffes embryonnaires Axolotls qui s'est trouvée confirmée dans le protocole P.w"Ax" relaté précédemment.

Dans le protocole Ax"P.w", les tératomes qui affectent les receveurs Axolotls proviennent d'animaux inoculés à l'âge de 12 semaines et de 4 mois avec des blastulas ou des neurulas Pleurodèles (tab. V et VI). Aucun tératome n'a été obtenu avec des implants d'embryons au stade du bourgeon caudal. Sur les 20 tératomes xénogéniques Ax"P.w", 16 étaient de type I, 4 de type II mais aucun de type III.

### 3. Receveurs *A.mexicanum* et implants *A.mexicanum* plus *P.waltl* (Ax"Ax+P.w")

Le protocole expérimental mixte dans lequel l'Axolotl reçoit des implants d'Axolotl albinos (3 embryons) en même temps que des implants de Pleurodèle (3 embryons) n'a fait l'objet que de 4 séries opératoires à partir de 10 animaux opérés dont 5 ont présenté un total de 8 tératomes. Comme pour le protocole précédent, peu d'interventions ont été effectuées car outre les problèmes de compatibilité entre *A. mexicanum* receveur et *P. waltl* implant, il est difficile de disposer en même temps d'embryons d'Axolotl et d'embryons de Pleurodèle à des stades de développement identiques.

Compte tenu de la faible histocompatibilité entre l'Axolotl receveur et le Pleurodèle implant, on peut penser que les tératomes Ax"Ax+P.w" obtenus proviennent de l'évolution des implants Axolotls plutôt que de l'évolution des implants Pleurodèles.

Sur les 8 tératomes observés, 4 étaient de type I, 3 de type II et tout de même un de type III. La présence d'un tératome de type III dans le protocole Ax"Ax+P.w" va dans le même sens quant à l'origine des tératomes à partir des seuls implants Axolotls comme dans le protocole Ax"Ax".

### 4. Types de tératomes dans les trois protocoles receveurs Pleurodèles et le protocole receveurs Axolotls-implants Axolotls

Le tableau VII rend compte pour les protocoles receveurs Pleurodèles (P.w"P.w", P.w"Ax" et P.w"P.w+Ax") et pour le protocole receveurs Axolotls (Ax"Ax") du nombre de tératomes de chaque type, de leur poids moyen ainsi que du poids moyen des hôtes correspondants.

**Tableau VII.** Types de tératomes dans les trois protocoles receveurs Pleurodèles (P.w"P.w", P.w"Ax" et P.w"P.w+Ax") et le protocole receveurs Axolotls-implants Axolotls (Ax"Ax"); nb. tér.: nombre de tératomes; % moyen: rapport entre le poids du tératome et le poids de l'hôte qui permet le classement du tératome dans l'un des trois types.

type	protocole	nb. tér.	poids moyens		% moyen
			tératome	hôte	
I	P.w"P.w"	79	0,1g	21g	0,5%
	P.w"Ax"	158	0,1g	19g	0,5%
	P.w"P.w+Ax"	67	0,15g	20,5g	0,7%
	Ax"Ax"	76	0,14g	32g	0,4%
II	P.w"P.w"	61	0,85g	19g	4,5%
	P.w"Ax"	120	0,5g	14g	3,6%
	P.w"P.w+Ax"	48	0,8g	18,5g	4,3%
	Ax"Ax"	60	1,05g	29g	3,6%
III	P.w"P.w"	34	4,8g	20g	24%
	P.w"Ax"	46	1,9g	8,2g	23%
	P.w"P.w+Ax"	18	3,2g	16,3g	20%
	Ax"Ax"	39	5,7g	32g	18%

Ne sont pas pris en considération ici le protocole Ax"P.w" dans lequel on n'observe que peu de tératomes ainsi que le protocole Ax"Ax+P.w" où il y a peu d'animaux opérés.

Les poids moyens ont été calculés à partir de 42 tératomes dans le protocole P.w"P.w", 66 tératomes dans le protocole P.w"Ax", 24 tératomes dans le protocole P.w"P.w+Ax" et 73 tératomes dans le protocole Ax"Ax".

La première constatation concerne le nombre de tératomes de chaque type dans tous les protocoles: il y a davantage de tératomes I que de tératomes II et surtout que de tératomes III. Par exemple, dans le protocole P.w"Ax" il y a 3,4 fois plus de tératomes I que de tératomes III et 2,6 fois plus de tératomes II que de tératomes III (158 types I, 120 types II et 46 types III).

La deuxième constatation est que le poids moyen des tératomes est inférieur à 0,2g pour le type I, ne dépasse guère 1g pour le type II, il est le plus souvent supérieur à 2g pour le type III où il atteint même 5,7g dans le protocole Ax"Ax". La conséquence est que le rapport entre le poids du tératome et le poids de l'hôte est toujours inférieur à 1% pour le type I, ne dépasse pas 5% pour le type II alors qu'il atteint 18 à 24% pour le type III.

Enfin la troisième constatation se rapporte au poids moyen des receveurs Pleurodèles affectés de tératomes qui est de 20,2g avec le type I, 17,2g avec le type II et 14,8g avec le type III. Ceci indique que le développement et la survie des Pleurodèles sont d'autant plus perturbés que les tératomes qui les affectent sont plus importants.

**Tableau VIII.** Protocoles expérimentaux selon les stades des receveurs Pleurodèles ou l'âge des receveurs Axolotls (entre parenthèses) avec des implants embryonnaires de Triton alpestre. Aux stades indiqués, les larves de Pleurodèle ont à peu près le même âge que les larves d'Axolotl. Pour chaque stade, le premier nombre est celui des tératomes et le second nombre, celui des animaux opérés; le pourcentage est le rapport entre ces deux nombres. Dans la partie inférieure du tableau, sont indiqués les nombres de tératomes de chaque type obtenus à chaque stade (ou âge) des receveurs. Le nombre total de tératomes est indiqué dans la colonne de droite entre "guillemets".

protocole	st.53 (8-10 sem.)	st.54 (12 sem.)	st.55a (14 sem.)	st.55b+c (4 mois)	5 mois	Total
P.w"alp"	-	1-20 -	0-14 -	-	-	"1"-34 3%
Ax"alp"	-	11-10 110%	-	16-21 76%	-	"27"-31 87%
P.w"Ax+alp"	-	-	-	11-6 -	-	"11"-6 -
total	-	12-30 40%	0-14 -	27-27 100%	-	"39"-71
type I	-	8	0	12	-	"20"
type II	-	4	0	11	-	"15"
type III	-	0	0	4	-	"4"
total	-	12	0	27	-	"39"

## D. Protocoles expérimentaux avec les implants embryonnaires *T.alpestris*

Les trois protocoles expérimentaux ci-après sont destinés à tester l'aptitude des embryons de Triton alpestre à pouvoir évoluer en tératomes xénogéniques dans la cavité générale du Pleurodèle et de l'Axolotl. Faute d'animaux juvéniles, il n'a pas été possible d'envisager si le Triton alpestre pouvait être affecté de tératomes allogéniques et xénogéniques.

### 1. Receveurs *P.waltl* et implants *T.alpestris* (P.w"alp")

Le protocole expérimental xénogénique dans lequel le Pleurodèle reçoit des implants embryonnaires de Triton alpestre a fait l'objet de 8 séries opératoires à partir de 34 animaux opérés dont un seul a été affecté d'un tératome, soit à peine 3% de tératomes par rapport aux 34 Pleurodèles opérés. Il s'agissait d'un petit tératome de type I chez un Pleurodèle du stade larvaire 54 qui avait reçu quatre gastrulas de Triton alpestre (tab. VIII et IX).

Parmi les neuf protocoles expérimentaux réalisés, le protocole xénogénique P.w"alp" est celui dans lequel on obtient le moins de tératomes; ceci provient de la faible histocompatibilité entre le Pleurodèle et le Triton alpestre.

**Tableau IX.** Protocoles expérimentaux selon les stades des implants embryonnaires de Triton alpestre. Pour chaque stade le premier nombre est celui des tératomes et le second nombre, celui des animaux opérés; le pourcentage est le rapport entre ces deux nombres. Dans la partie inférieure du tableau sont indiqués les nombres de tératomes de chaque type obtenus avec chaque catégorie d'implants. Le nombre total de tératomes est indiqué dans la colonne de droite du tableau entre "guillemets". b.caud.: bourgeon caudal jeune. La colonne de droite du tableau IX est la même que la colonne de droite du tableau VIII.

protocole	blastula	gastrula	neurula	b. caud.	élém. emb.	total
P.w"alp"	-	1-6	0-14	0-14	-	"1"-34 3%
Ax"alp"	-	11-14	3-4	13-13	-	"27"-31 87%
P.w"Ax+alp"	-	-	11-6	-	-	"11"-6
total	-	12-20 60%	14-24 58%	13-27 48%	-	"39"-71
type I	-	8	8	4	-	"20"
type II	-	4	5	6	-	"15"
type III	-	-	1	3	-	"4"
total	-	12	14	13	-	"39"

### 2. Receveurs *A.mexicanum* et implants *T.alpestris* (Ax"alp": fig.14 et 16 planche III)

Le protocole expérimental xénogénique dans lequel l'Axolotl reçoit des implants embryonnaires de Triton alpestre, a fait l'objet de 7 séries opératoires

à partir de 31 animaux opérés dont 19 (61%) ont présenté un total de 27 tératomes, ce qui correspond à 87% de tératomes par rapport aux 31 Axolotls opérés. Le rendement opératoire, nettement plus élevé que dans le protocole précédent P.w"alp", rend compte d'une histocompatibilité différente.

Le faible nombre d'opérations n'autorisant pas un calcul des pourcentages, on peut néanmoins constater que, quels que soient l'âge des receveurs Axolotls (tableau VIII) et le stade des implants Tritons alpestres (tableau IX), des Axolotls sont affectés de tératomes xénogéniques. Dans le tableau VIII l'âge des receveurs Axolotls (entre parenthèses) est calqué sur les stades du Pleurodèle qui d'ailleurs ont un âge sensiblement équivalent.

Comme dans tous les autres protocoles, les tératomes Ax"alp" de type I (14 cas) sont plus fréquents que les tératomes de type II (10 cas) et surtout que les tératomes de type III (3 cas).

### **3. Receveurs *P.waltl* et implants *A.mexicanum* plus *T.alpestris* (P.w"Ax+alp")**

Pour le protocole expérimental mixte dans lequel le Pleurodèle reçoit des implants d'Axolotl albinos (3 embryons) en même temps que des implants de Triton alpestre (2 embryons), une seule série opératoire a été effectuée à partir de 6 animaux dont 5 furent affectés de 11 tératomes. Ces Pleurodèles ont été sacrifiés quatre mois et demi après l'implantation, soit vers l'âge de sept mois (tab. VIII et IX).

Parmi les 5 Pleurodèles affectés de tumeurs, un animal avait un gros tératome de type III au niveau duquel une plage cutanée pigmentée était manifestement du Triton alpestre alors que la majeure partie dépigmentée était de l'Axolotl albinos: il s'agissait par conséquent d'un tératome xénogénique chimère. Les 10 autres tératomes, dont 5 de type I et 5 de type II, étaient uniquement de l'Axolotl albinos. La formation de 11 tératomes avec du tissu Axolotl dont un seul possédait un peu de tissu Triton alpestre confirme bien les résultats des protocoles précédents, à savoir, la présence de tératomes chez plus de la moitié des animaux dans le protocole P.w"Ax" (136 Pleurodèles affectés de tératomes sur 215 opérés) et le très faible nombre de tératomes dans le protocole P.w"alp" (un seul Pleurodèle affecté d'un petit tératome sur 34 opérés).

## **E. Analyse expérimentale**

### **1. Types de tératomes pour l'ensemble des protocoles expérimentaux**

Pour l'ensemble des neuf protocoles expérimentaux qui portent sur 716 animaux opérés, les 873 tératomes observés (122% par rapport aux opérés) se répartissent en 420 de type I (59%), 311 de type II (43%) et 142 de type III (20%). Il y a pratiquement trois fois plus de types I et deux fois plus de types II que de types III.

Cette observation est valable aussi bien pour les stades (ou les âges) des receveurs (tab. X) que pour les stades des implants embryonnaires (tab. XI). Par exemple, pour les receveurs Pleurodèles du stade 54 (ou pour les receveurs

**Tableau X.** Récapitulatif des types de tératomes pour les neuf protocoles expérimentaux en fonction du stade des receveurs Pleurodèles (ou de l'âge des receveurs Axolotls). Dans la partie inférieure du tableau, le total pour chaque stade (ou âge) des receveurs comprend un premier nombre pour les tératomes et un second nombre pour les animaux opérés; le % est le rapport entre le nombre de tératomes et le nombre d'animaux opérés. Noter que la fréquence des tératomes augmente avec le stade (ou l'âge) des animaux receveurs. Dans la partie droite du tableau, le premier nombre entre "guillemets" correspond au total des tératomes pour un type; le pourcentage (entre parenthèses) est le rapport entre le nombre de tératomes d'un type et le total des animaux opérés (716).

types	st.53 (8-10 sem.)	st.54 (12 sem.)	st.55a (14 sem.)	st.55b + c (4 mois)	5 mois	total (%)
I	29	124	63	104	100	"420" (59%)
II	31	92	45	67	76	"311" (43%)
III	22	50	21	28	21	"142" (20%)
total	82-102	266-277	129-123	199-122	197-92	"873"-716
%	80%	96%	105%	163%	214%	122%

Axolotls âgés de 12 semaines), les 266 tératomes observés chez 277 animaux opérés, se répartissent en 124 de type I, 92 de type II et 50 de type III (tab. X). De même en prenant l'exemple des implants du stade gastrula, parmi les 384 tératomes observés chez 263 animaux opérés 196 sont de type I, 133 de type II et 55 de type III (tab. XI).

**Tableau XI.** Récapitulatif des types de tératomes pour les neuf protocoles expérimentaux en fonction du stade des implants embryonnaires; b. caud.: bourgeon caudal jeune, élém. emb.: bourgeon caudal âgé (stades 31-32). Dans la partie inférieure du tableau, le total pour chaque stade des implants comprend un premier nombre pour les tératomes et un second nombre pour les animaux opérés; le % est le rapport entre le nombre de tératomes et le nombre d'animaux opérés. Noter que la fréquence des tératomes la plus faible est obtenue avec les implants de blastulas. La colonne droite du tableau XI est la même que la colonne de droite pour le tableau X.

types	blastula	gastrula	neurula	b. caud.	élém. emb.	total
I	50	196	100	63	11	"420" (59%)
II	7	133	56	84	31	"311" (43%)
III	2	55	34	36	15	"142" (20%)
total	59-109	384-263	190-127	183-167	57-50	"873"-716
%	54%	146%	150%	110%	114%	122%

Le pourcentage des tumeurs augmente à mesure que les animaux opérés sont plus âgés: 80% pour les receveurs du stade 53 et jusqu'à 214% pour les receveurs âgés de 5 mois (tab. X). Ainsi qu'il a déjà été signalé à propos des

protocoles P.w"P.w" et P.w"Ax", les implants de blastulas qui sont plus fragiles, évoluent bien moins souvent en tératomes (54%) que les implants plus âgés. Mais il y a peu de différences dans les pourcentages de tératomes issus d'implants de gastrulas, de neurulas et d'embryons aux stades du bourgeon caudal jeune ou âgé (tab. XI).

Enfin les pourcentages des différents types de tératomes sont respectivement de 48% pour le type I, 36% pour le type II et 16% pour le type III.

## 2. Influence des souches d'Axolotl sur la fréquence des tératomes

La disponibilité de plusieurs souches d'Axolotl et les nombreuses interventions réalisées ont permis d'analyser le nombre des tératomes en fonction des receveurs et des implants de chaque souche. Dans les quatre protocoles receveurs Axolotls (Ax"Ax", Ax"P.w", Ax"Ax+P.w" et Ax"alp") l'analyse porte sur 230 tératomes pour 150 animaux opérés dont 96 sont affectés de tératomes. Le plus fort pourcentage de tumeurs en fonction des animaux opérés se rencontre pour les souches albinos (189%) (tab. XII), le plus faible pourcentage étant pour la souche noire sauvage (114%).

**Tableau XII.** Fréquence des tératomes en fonction des souches d'Axolotls: souche sauvage noire, souche blanche, souches albinos; tér.: tératomes, op.: animaux opérés. Les pourcentages correspondent aux rapports entre les nombres de tératomes et les nombres d'animaux opérés. Noter les pourcentages plus élevés de tératomes aussi bien pour les hôtes albinos que pour les implants albinos.

protocoles	souche DA	souche dA	souches Da + da
avec Ax hôtes Ax"Ax", Ax"P.w" Ax"Ax+P.w" Ax"alp"	67 tér. - 59 op. 114%	61 tér. - 37 op. 165%	102 tér. - 54 op. 189%
	230 tératomes - 150 opérés		
	(110 types I + 77 types II + 43 types III)		
avec "Ax" implants Ax"Ax", P.w"Ax" P.w"P.w+Ax" Ax"Ax+P.w" P.w"Ax+alp"	140 tér. - 105 op. 133%	136 tér. - 98 op. 139%	375 tér. - 190 op. 197%
	651 tératomes - 393 opérés		
	(310 types I + 236 types II + 105 types III)		

Dans les cinq protocoles implants Axolotls (Ax"Ax", P.w"Ax", P.w"P.w+Ax", Ax"Ax+P.w" et P.w"Ax+alp") l'analyse porte sur 651 tératomes pour 393 animaux opérés dont 281 sont affectés de tératomes. Le plus fort pourcentage de tumeurs en fonction des animaux inoculés se rencontre avec les implants des souches albinos (197%) (tab. XII). Alors que le pourcentage avec les implants de la souche sauvage (133%) est nettement plus faible et peu différent du pourcentage avec des implants de la souche blanche (138%).

Ainsi la fréquence des tératomes qui affectent les receveurs Axolotls des souches albinos de même que la fréquence d'évolution en tératomes des

implants des souches albinos sont dans tous les cas plus élevées que pour les receveurs et les implants des souches sauvage et blanche.

Comme pour tous les protocoles expérimentaux envisagés séparément, les tératomes de type I sont plus nombreux que ceux de type II et surtout que les tératomes de type III aussi bien pour l'ensemble des protocoles receveurs Axolotls que pour l'ensemble des protocoles implants Axolotls.

### 3. Auto-implants chez *P.waltl* (fig.14 et 17 planche III)

Dans le protocole expérimental P.w"P.w", seulement 95 animaux sur 240 opérés étaient affectés de tératomes (tab.II). L'absence de tumeurs chez près de deux Pleurodèles sur trois pouvant être due à des phénomènes immunitaires de rejet, des implantations furent tentées chez des femelles adultes en utilisant leurs propres embryons âgés de quelques jours. Bien qu'en partie inexact, le terme d'"auto-implant" est appliqué aux embryons de ces femelles. L'intervention consiste à planter des embryons aux stades gastrulas ou neurulas dans la cavité générale des femelles qui leur avaient donné naissance. Le tableau XIII retrace la série opératoire des auto-implants chez six femelles. Les embryons implantés proviennent de pontes ayant un taux de développement élevé (90 à 97%). Il convient de noter le nombre important d'implants, 70 à 150 embryons selon les cas. Les six femelles en cause sont des jeunes adultes âgées de 15 à 36 mois dans lesquelles l'inoculation est facile compte tenu du volume de la cavité générale. Un grand nombre d'embryons sont inoculés pour s'assurer qu'il y en aura suffisamment de tolérés et surtout pour confirmer la fusion d'embryons à l'origine de tératomes allogéniques chimères.

**Tableau XIII.** Série opératoire avec des auto-implants chez le Pleurodèle; âge femelle: âge (en mois) des femelles pondeuses et receveurs; oeufs pondus: nombre d'oeufs pondus par chaque femelle; % de dévelop.: pourcentage de développement dans chaque ponte; emb. implant.: nombre d'embryons implantés; stade: stade des embryons implantés; dissect.: nombre de mois après l'implantation au moment de la dissection; tératomes: nombre de tératomes de chaque type.

âge femelle	oeufs pondus	% de dévelop.	emb. implant.	stade	dissect.	tératomes
15 mois	350	92%	70	st.14	12 mois	2 I, 1 II, 1 III
15 mois	320	90%	130	st.12	12 mois	8 II, 1 III
24 mois	210	95%	80	st.13	10 mois	3 II, 1 III
27 mois	500	97%	150	st.13	9 mois	10 I, 5 II
29 mois	630	95%	140	st.15	7 mois	1 III
36 mois	900	90%	150	st.18	7 mois	7 I, 5 II

Des nodules tumoraux étaient déjà palpables trois mois après l'intervention. Dans tous les cas, les six femelles sont rapidement devenues cachectiques, d'où la nécessité de les sacrifier au plus tard 12 mois après l'implantation.

Toutes les femelles sont affectées de tératomes. Chez deux d'entre elles, on a observé respectivement 12 et 15 tumeurs de types I et II alors que chez deux

autres il n'y a qu'un seul très gros tératome de type III. Et même dans un cas, le tératome de type III pesait 21g alors que l'hôte sans sa tumeur ne pesait que 20g. Les gros tératomes proviennent de toute évidence de la fusion de nombreux implants comme l'atteste la présence à leur surface de 7 à 10 pattes. En plus des tératomes bien individualisés adhérant aux viscères, on observe des kystes hépatiques superficiels qui sont des petits tératomes provenant des implants ayant adhéré à la surface du foie. De toute évidence, le faible nombre de tératomes en dépit du nombre important d'implants, rend compte que dans le protocole P.w"P.w", la majorité des implants Pleurodèles sont rejetés.

#### **4. Effet de la thymectomie sur la fréquence des tératomes**

Comme dans la série opératoire concernant les auto-implants, l'hypothèse selon laquelle des phénomènes immunitaires de rejet interviendraient dans la fréquence des tératomes fut testée à partir d'animaux thymectomisés. Au total, 63 receveurs tant Pleurodèles qu'Axolotls dans les divers protocoles expérimentaux, furent thymectomisés deux à sept jours avant l'implantation des embryons. Dans ces conditions, la thymectomie n'a pas augmenté le nombre d'animaux affectés de tératomes. Sur les 63 animaux thymectomisés, 31 ont présenté des tératomes (50%). On a un pourcentage du même ordre pour les animaux non-thymectomisés (54%). Pour l'ensemble des trois types de tératomes, 64 tumeurs furent observées, ce qui correspond à 102% de tératomes par rapport aux 63 animaux thymectomisés. Pour les 653 animaux non-thymectomisés, on avait un total de 809 tératomes, ce qui correspondait à 124% de tératomes. Le pourcentage de tératomes chez les animaux thymectomisés, peu différent et même inférieur à celui des animaux normaux, semblerait indiquer que la thymectomie n'a aucune incidence sur la fréquence ou les types de tératomes. Cependant il est possible que l'ablation du thymus ait été trop tardive pour être efficace.

#### **5. Organogenèse dans les tératomes**

Bien que constitués d'un ensemble anarchique de différents tissus, le terme "organogenèse" appliqué aux tératomes s'adresse ici à la présence de formations bien individualisées. Les tératomes de type I sont trop réduits pour que des organes ou des ébauches d'organes puissent se repérer autrement qu'à l'examen histologique. Pour les tératomes des types II et III on observe souvent à leur surface, des plages cutanées d'autant plus facilement repérables qu'elles sont recouvertes de mues pouvant former d'épais empilements noirâtres. Certains tératomes une fois dilacérés, laissent apparaître des amas internes de mues sans communication avec l'épithélium superficiel de ces tumeurs. Le cas le plus évident est celui des tératomes xénogéniques P.w"Ax" avec des plages de peau métamorphosée d'Axolotl.

Les formations les plus visibles sont des pattes avec fréquemment une ceinture et toujours des doigts le plus souvent au nombre de quatre, ce qui correspondrait à des membres antérieurs, ceux-ci pouvant être partiellement dupliqués. Parmi les 716 animaux opérés, 74 (10%) étaient affectés de tératomes

avec des pattes (tab. XIV). Seul, un tératome de type I présentait une ébauche de membre alors que les tératomes de type II et surtout ceux de type III peuvent présenter plusieurs pattes, certains de ces derniers ayant jusqu'à huit pattes plus ou moins imbriquées. Ces nombreuses pattes à la surface d'un même tératome, se sont probablement formées à la suite de la fusion précoce de plusieurs implants ainsi qu'il a déjà été signalé à propos des auto-implants. Quel que soit leur stade au moment de l'inoculation, les implants peuvent évoluer en tératomes avec des pattes. Cependant peu fréquentes avec les implants de blastulas et de gastrulas (3% et 7%), les pattes se rencontrent davantage à partir d'implants âgés, surtout quand il s'agit d'éléments embryonnaires des stades 31-32 (24%).

**Tableau XIV.** Tératomes avec formation de membres en fonction du stade des implants; élém. emb.: bourgeon caudal âgé (stades 31-32); les pourcentages correspondent aux rapports entre le nombre de tératomes pourvus de membres et le nombre d'animaux opérés. Noter qu'il y a deux fois plus de tératomes III avec des pattes (49) que de tératomes II (24). La fréquence des tératomes avec des pattes augmente à mesure que les implants sont plus âgés.

stades implants	types tératomes pattes				nb. an. opérés	%
	I	II	III	total		
blastula	-	3	-	3	109	3%
gastrula	-	5	12	18	263	7%
neurula	-	4	15	19	127	15%
b. caudal	-	10	12	22	167	13%
élém. emb.	-	2	10	12	50	24%
total	1	24	49	74	716	10%

Parmi les formations les plus remarquables, six tératomes dont deux de type II et quatre de type III, avaient un coeur qui battait régulièrement au moment de la dissection. Ces tératomes qui possédaient également des pattes, étaient des tumeurs allogéniques P.w"P.w" pour quatre d'entre elles et des tumeurs xénogéniques P.w"Ax" pour les deux autres. A noter pour ces deux dernières que le coeur dans un tératome Axolotl, battait au même rythme que le coeur de l'hôte Pleurodèle. Les implants à l'origine des formations cardiaques provenaient de neurulas et d'embryons au stade du bourgeon caudal jeune.

Enfin, il a été observé deux cas de tératomes renfermant des ovocytes en cours d'accroissement. L'un était un tératome allogénique Ax"Ax" chez un Axolotl femelle âgé de 42 mois dont les implants provenaient de gastrulas. L'autre était un tératome xénogénique P.w"Ax" chez un Pleurodèle mâle âgé de 5 ans dont les implants provenaient d'embryons d'Axolotl au stade du bourgeon caudal jeune.

## 6. Ablation des tératomes

Afin d'envisager la formation de métastases par certaines tumeurs, des ablations de tératomes furent pratiquées chez 12 Pleurodèles dont 2 pour le protocole P.w"P.w", 8 pour le protocole P.w"Ax" et 2 pour le protocole

P.w"P.w+Ax". Les ablations furent réalisées entre l'âge de 10 et 36 mois, c'est-à-dire entre 7 mois et 33 mois après l'implantation; elles concernaient 2 tumeurs de type I, 4 de type II et 6 de type III. L'ablation est commode lorsque les adhérences aux parois de la cavité générale ou aux viscères sont légères; elle est plus délicate et entraîne une forte hémorragie lorsque les adhérences sont plus importantes; cependant aucun animal n'a péri à la suite de ces interventions tardives.

Deux Pleurodèles furent sacrifiés 18 mois après l'ablation, les autres entre 3 et 6 ans après l'ablation. Aucune tumeur ne s'est reconstituée après les diverses ablations. Pour les animaux qui étaient cachectiques au moment de l'ablation à cause de la présence d'un gros tératome III, le développement s'est poursuivi d'autant plus normalement qu'ils ont vite repris un aspect tout à fait comparable à celui des témoins du même âge.

Ainsi, pour les tératomes éradiqués dans les conditions ci-dessus, il n'a pas été mis en évidence d'essaimage d'éléments cellulaires (métastases) qui auraient pu provoquer la formation de nouvelles tumeurs.

### 7. Greffes de tératomes

Après l'ablation des tumeurs qui n'a conduit à aucune néo-formation, il a été procédé sur des animaux standard, à la greffe de fragments de tératome pour tenter d'obtenir des lignées de tumeurs transplantables. Le prélèvement des greffons s'est fait uniquement sur des tératomes de type III dont l'évolution rapide permettait de présager un nouveau développement en conséquence, dans la mesure où la reprise du greffon serait possible.

Les ablations précédentes furent mises à profit dans 3 cas pour prélever des greffons, les 9 autres prélèvements sont intervenus lors de dissections. Les greffons sont découpés selon une forme allongée de 4 à 6 millimètres. Après une légère incision sur le flanc de l'animal receveur, un ou plusieurs greffons sont soit glissés dans la cavité générale, soit le plus souvent maintenus à l'intérieur par un fil qui suture en même temps l'incision; ainsi coincés, les fragments de tératomes sont rapidement revascularisés. Les receveurs Pleurodèles comme les receveurs Axolotls âgés de 3 à 6 mois ont été thymectomisés respectivement au moins un à quatre mois plus tôt, afin d'éviter les phénomènes de rejet.

Au total, 33 Pleurodèles et 14 Axolotls, tous thymectomisés, ont reçu des greffons de type III qui provenaient des protocoles P.w"P.w", P.w"Ax", Ax"Ax" et Ax"alp". Les laparotomies effectuées 4 mois après la greffe ont permis de retrouver la plupart des greffons, cependant certains avaient déjà diminué de volume. La dissection des animaux est intervenue entre 16 mois et 42 mois après la greffe. Chez 19 animaux greffés sur les 47 opérés, aucun greffon n'a été retrouvé. Les 28 autres avaient encore un élément de tératome bien repérable mais le plus souvent moins volumineux qu'au moment de la greffe; parmi ces derniers, seulement trois greffons avaient légèrement augmenté de volume. Ainsi, quand ils sont transplantés chez des animaux sains, les fragments de tumeur de type III sont incapables de reformer de nouvelles tumeurs du même type.

**Planche I. - Tératomes allogéniques receveurs Pleurodèles-implants Pleurodèles (P.w"P.w") et receveurs Axolotls-implants Axolotls (Ax"Ax")**

**Figure 1.** Pleurodèle mâle 14 mois après l'implantation de cinq gastrulas (st.13) de Pleurodèle au stade de la métamorphose (st.55b). Le volumineux tératome pèse 11g, l'hôte avec le tératome pèsent 25,5g (tératome de type III, 43%). (18 mois, 165mm).

**Figure 2.** Pleurodèle mâle 16 mois après l'implantation de trois éléments embryonnaires de Pleurodèle (st.31-32) un mois après la métamorphose: présence d'un gros tératome avec du tube digestif et un membre à quatre doigts. (21mois, 110mm).

**Figure 3.** Tératomes isolés P.w"P.w" provenant de deux Pleurodèles différents. **A**, implantation de trois éléments embryonnaires de Pleurodèle (st.31-32) au stade larvaire (st.54): tératome III (11%) quatre ans plus tard. **B**, implantation de quatre bourgeons caudaux de Pleurodèle (st.26) au stade larvaire (st.53): deux tératomes II (2,5% et 5%) 27 mois plus tard. Type et poids sont indiqués pour chaque tumeur.

**Figure 4.** Axolotl sauvage 5 mois après l'implantation de trois gastrulas d'Axolotl albinos (st.13) à l'âge de 3 mois (50mm): tératome de type III avec un membre à quatre doigts. (8mois, 110mm).

**Figure 5.** Axolotl sauvage 4 mois après l'implantation de trois gastrulas d'Axolotl albinos (même série opératoire que la figure 4): tératome II et tératome III. (7mois, 85mm).

**Figure 6.** Deux tératomes isolés Ax"Ax" provenant d'un Axolotl blanc 17 mois après l'implantation de trois bourgeons caudaux d'Axolotl albinos (st.25) à l'âge de 14 semaines (55mm): types III (13% et 18%). Type et poids sont indiqués sur chaque tumeur.

I, II, III: types de tératomes. Dans la légende, chaque type est indiqué avec le pourcentage (entre parenthèses) et sur les figures de tumeurs isolées, chaque type est indiqué avec son poids (en grammes); t.: testicule; t.d.: tube digestif. Traits des différentes échelles = 20mm.

**Planche II. - Tératomes xénogéniques receveurs Pleurodèles-implants Axolotls (P.w"Ax")**

**Figure 7.** Pleurodèle femelle 19 mois après l'implantation de quatre blastulas d'Axolotl albinos (st.8) au stade de la métamorphose (st.55b): abdomen déformé par un volumineux tératome de type III. (22mois, 160mm).

**Figure 8.** Pleurodèle femelle 11 mois après l'implantation de quatre bourgeons caudaux d'Axolotl albinos (st.25) en fin de métamorphose (st.55c); un mince tractus ("cordon ombilical", flèches) relie les deux tératomes de type III à l'hôte. (15mois, 90mm).

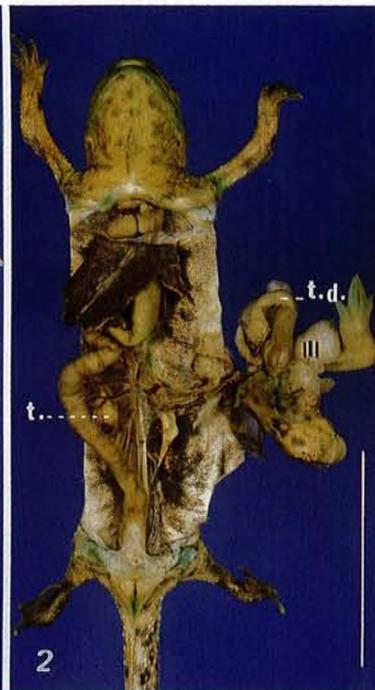
**Figure 9.** Tératomes isolés P.w"Ax" provenant de trois Pleurodèles différents. **A**, implantation de deux bourgeons caudaux d'Axolotl sauvage (st.26) au stade larvaire (st.53): tératome II (3,6%) 11 mois plus tard. **B**, même série opératoire que la figure 9A: tératome I (0,9%) 11 mois plus tard. **C**, implantation de quatre blastulas d'Axolotl albinos (st.8) au stade de la métamorphose (55b): deux tératomes II (1,2% et 2,4%) 33 mois plus tard. Type et poids sont indiqués à côté de chaque tumeur.

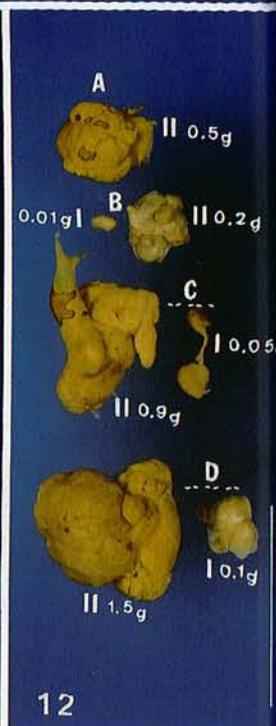
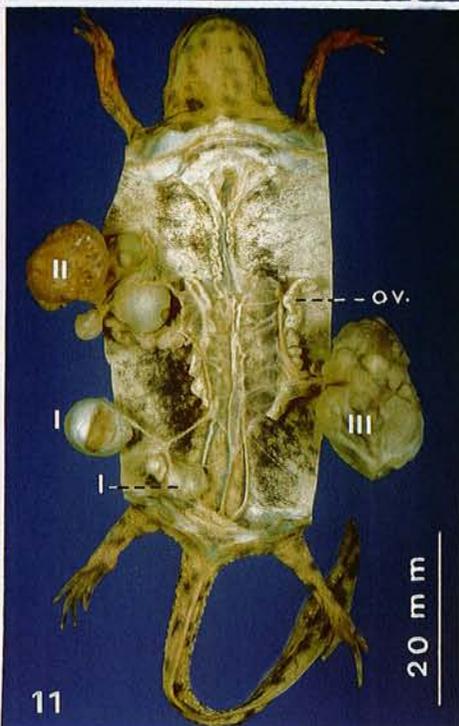
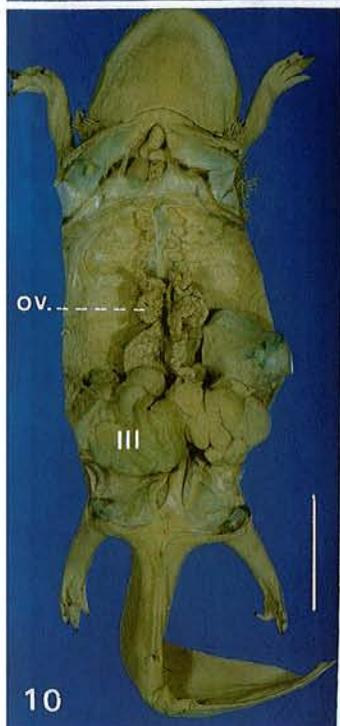
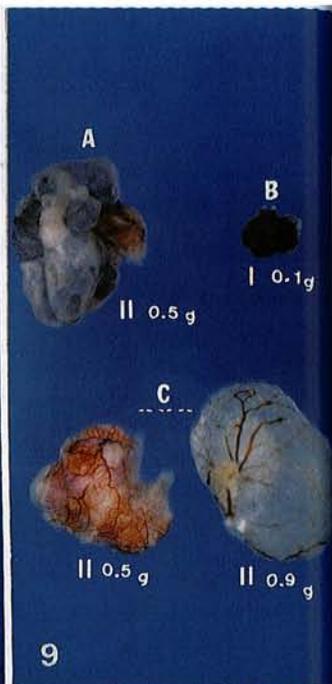
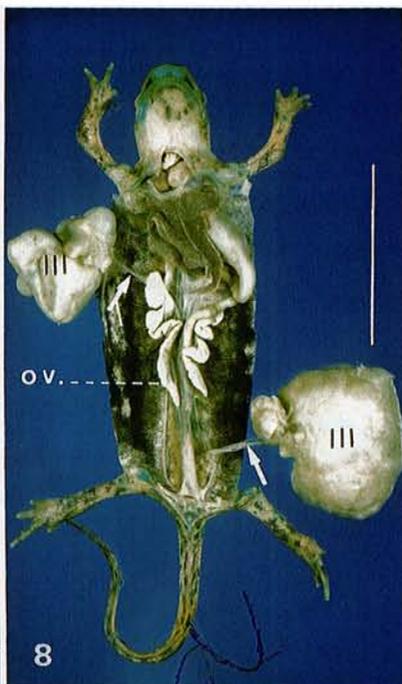
**Figure 10.** Axolotl albinos femelle 19 mois après l'implantation de quatre gastrulas d'Axolotl albinos (st.10) à l'âge de 10 semaines (45mm): volumineux tératome de type III. (22mois, 160mm).

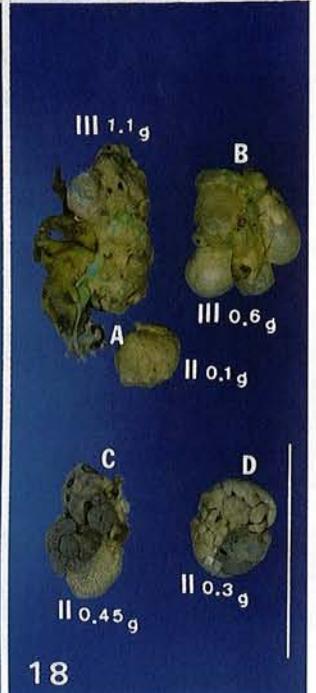
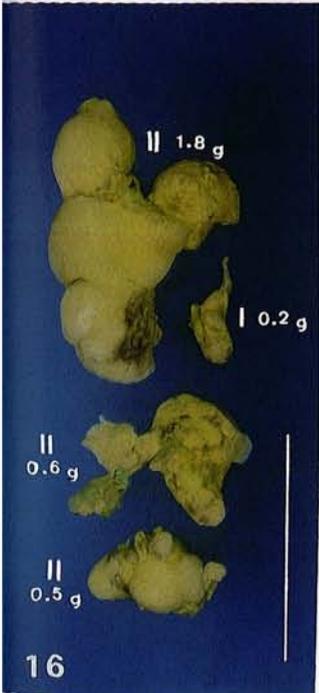
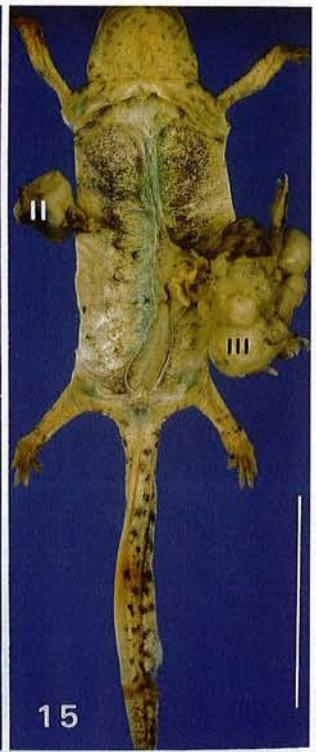
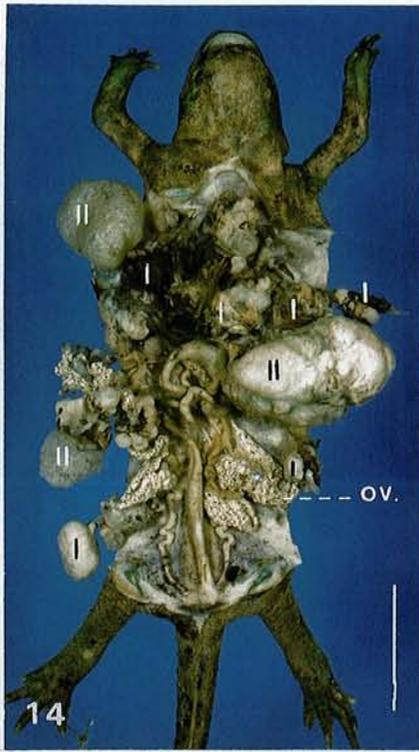
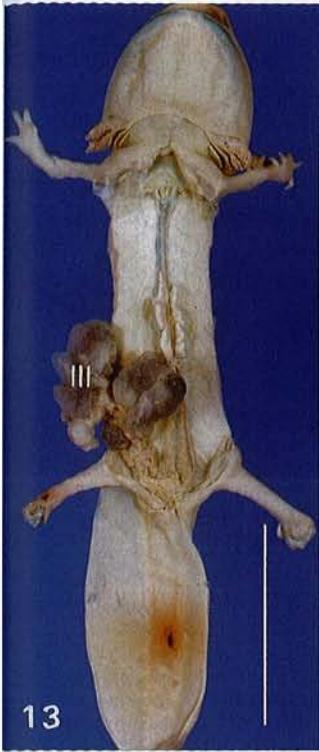
**Figure 11.** Pleurodèle femelle 11 mois après l'implantation d'embryons d'Axolotl (même série opératoire que la figure 8): deux tératomes I, un tératome II et un tératome III. (15mois, 115mm).

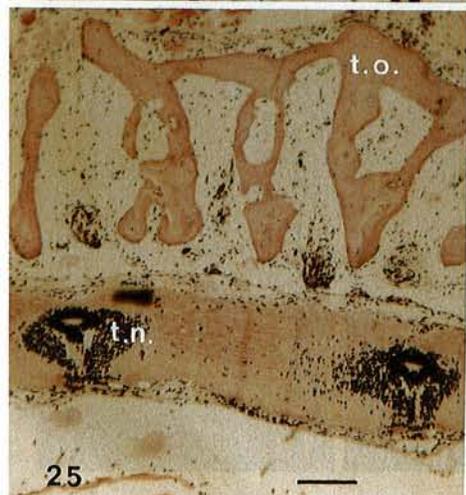
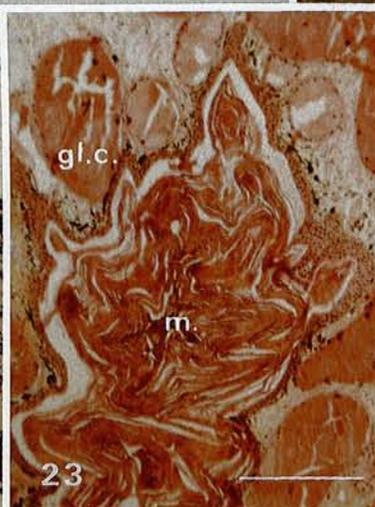
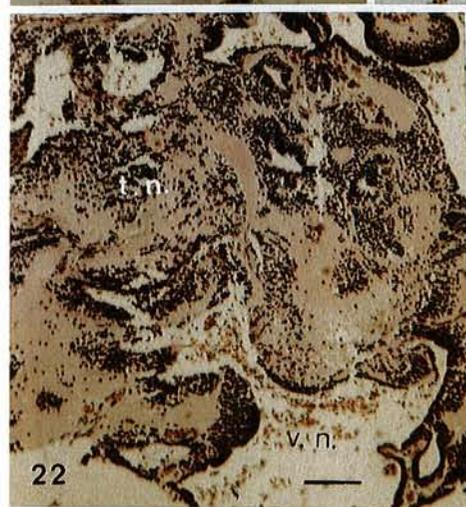
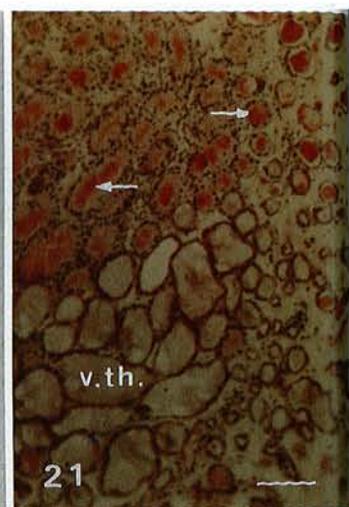
**Figure 12.** Tératomes isolés P.w"Ax" provenant de quatre Pleurodèles différents. **A**, implantation de deux bourgeons caudaux d'Axolotl albinos (st.25) au stade larvaire (st.53): tératome II (3,1%) 13 mois plus tard. **B**, implantation de quatre gastrulas d'Axolotl albinos (st.12) au stade larvaire (st.54): tératome I (0,2%) et tératome II (2,5%) 17 mois plus tard. **C**, implantation de deux neurulas d'Axolotl blanc (st.22) au stade larvaire (st.53): tératome I (0,15%) et tératome II (4%) 27 mois plus tard. **D**, implantation de deux bourgeons caudaux d'Axolotl blanc (st.30) au stade larvaire (st.53): tératome I (0,3%) et tératome II (5%) 28 mois plus tard. Type et poids sont indiqués à côté de chaque tumeur.

I, II, III: types de tératomes. Dans la légende, chaque type est indiqué avec le pourcentage (entre parenthèses) et sur les figures de tumeurs isolées, chaque type est indiqué avec son poids (en grammes); ov.: ovaire. Traits des différentes échelles = 20mm.









---

### Planche III. - Tératomes allogéniques issus d'auto-implants et tératomes xénogéniques

---

**Figure 13.** Ax"alp". Axolotl albinos 5 mois après l'implantation de cinq bourgeons caudaux de Triton alpestre (st.22) à l'âge de 18 semaines (55mm): tératome xénogénique de type III. (10mois, 75mm).

**Figure 14.** Auto-implants. Pleurodèle femelle 9 mois après l'implantation de 150 gastrulas (st.13) dans cette femelle à l'âge de 27 mois. Noter les nombreux tératomes de types I et II. (3ans, 185mm).

**Figure 15.** Pleurodèle femelle 3 mois et demi après l'implantation de cinq bourgeons caudaux de Pleurodèle (st.26) au stade larvaire (st.53): tératome de type II et tératome de type III avec un membre. (6mois, 70mm).

**Figure 16.** Ax"alp". Tératomes isolés provenant d'un Axolotl albinos 13 mois après l'implantation de quatre bourgeons caudaux de Triton alpestre (st.24) à l'âge de 16 semaines (55mm): tératome I (0,6%) et trois tératomes II (2%, 2,4% et 7,2%). Poids total de l'hôte: 24,8g. Type et poids sont indiqués à côté de chaque tumeur.

**Figure 17.** Auto-implants. Tératomes isolés provenant d'un Pleurodèle femelle 10 mois après l'implantation de 80 gastrulas (st.13) dans cette femelle à l'âge de 24 mois: trois tératomes II (1,6%, 4,7% et 7,2%), un tératome III (22%). Poids total de l'hôte: 19,3g. Type et poids sont indiqués à côté de chaque tumeur.

**Figure 18.** P.w"P.w+Ax". Tératomes isolés provenant de quatre Pleurodèles différents après l'implantation d'embryons de Pleurodèle et d'embryons d'Axolotl. **A**, implantation de trois neurulas de Pleurodèle (st.16) plus deux neurulas d'Axolotl albinos (st.15) en fin de métamorphose (st.55c): tératome II (2,3%) et tératome III (17%) 17 mois plus tard. **B**, implantation de trois bourgeons caudaux de Pleurodèle (st.22) plus deux bourgeons caudaux d'Axolotl albinos (st.25) au stade larvaire (st.54): tératome III (18%) 16 mois plus tard. **C**, implantation de trois bourgeons caudaux de Pleurodèle (st.27) plus deux bourgeons caudaux d'Axolotl sauvage (st.28) au stade larvaire (st.53): tératome II (1,7%) 30 mois plus tard. **D**, implantation de trois bourgeons caudaux de Pleurodèle plus deux bourgeons caudaux d'Axolotl sauvage (même série opératoire que la figure 18C): tératome II (1,3%) 30 mois plus tard. Type et poids sont indiqués à côté de chaque tumeur.

I, II, III: types de tératomes. Dans la légende, chaque type est indiqué avec le pourcentage (entre parenthèses) et sur les figures de tumeurs isolées, chaque type est indiqué avec son poids (en grammes); ov.: ovaire. Traits des différentes échelles = 20mm.

---

### Planche IV. - Aspect histologique des tératomes

---

**Figure 19.** Tératome allogénique P.w"P.w" de type III, 3 mois après l'implantation d'embryons de Pleurodèle au stade du bourgeon caudal jeune (st.26) chez un Pleurodèle au stade larvaire 54: importante excroissance de tissu digestif avec des villosités.

**Figure 20.** Tératome allogénique P.w"P.w" de type I, 5 mois après l'implantation de gastrulas de Pleurodèle chez un Pleurodèle métamorphosé depuis un mois: tissu conjonctif plus ou moins dense, de nombreuses mitoses ont été identifiées dans la partie la plus dense.

**Figure 21.** Tératome xénogénique P.w"Ax" de type II, 36 mois après l'implantation de quatre éléments embryonnaires d'Axolotl albinos (st.31) chez un Pleurodèle en fin de métamorphose (st.55c): tissu thyroïdien avec de nombreuses vésicules dont certaines renferment de la colloïde (flèches).

**Figure 22.** Tératome xénogénique P.w"Ax" de type III, 7 mois après l'implantation de quatre blastulas d'Axolotl albinos chez un Pleurodèle en cours de métamorphose (st.55b): épais tissu nerveux avec des vésicules qui renferment des hématies.

**Figure 23.** Tératome xénogénique P.w"Ax" de type III, 15 mois après l'implantation de cinq neurulas d'Axolotl blanc chez un Pleurodèle au stade larvaire 54: peau métamorphosée d'Axolotl avec une vésicule interne qui renferme un empilement de mues en "pelure d'oignon" parmi des glandes cutanées.

**Figure 24.** Tératome xénogénique P.w"Ax" de type III, 40 mois après l'implantation de quatre blastulas d'Axolotl albinos chez un Pleurodèle en cours de métamorphose (st.55b): peau métamorphosée d'Axolotl albinos avec des glandes cutanées superficielles et profondes.

---

**Figure 25.** -Tératome allogénique P.w"P.w" de type III, 40 mois après l'implantation de deux éléments embryonnaires de Pleurodèle (st.31) chez un Pleurodèle au stade larvaire 53: travées osseuses décalcifiées et double tube nerveux.

**Figure 26.** Tératome allogénique Ax"Ax" de type III, 8 mois après l'implantation de trois jeunes stades de bourgeon caudal d'Axolotl sauvage (st.26) chez un Axolotl sauvage âgé de 3 mois: structure désorganisée avec des éléments de cartilage entourés d'une gaine conjonctive parmi des tissus et des vésicules non identifiables.

ca.: cartilage; g.cj.: gaine conjonctive; gl.c.: glande cutanée; m.: mues; t.cj.: tissu conjonctif; t.d.: tissu digestif; t.n.: tissu nerveux; t.o.: tissu osseux décalcifié; v.n.: vésicule nerveuse; v.th.: vésicule thyroïdienne; vil.d.: villosités digestives. Toutes les figures sont à la même échelle, sauf les figures 20 et 23. Traits d'échelles = 200µm.

---

## F. Analyse histologique

### 1. Différenciations tissulaires (pl.IV)

L'étude histologique a porté sur les tératomes des divers protocoles expérimentaux dont 15 de type I, 16 de type II et 15 de type III.

D'une manière générale, les structures trouvées ne dépendent ni du stade de l'implant embryonnaire, ni de son origine; les jeunes implants de blastulas donnent des différenciations comparables à celles des implants de bourgeons caudaux âgés (éléments embryonnaires). Des villosités intestinales, des vésicules cérébrales, des baguettes de cartilage ou de la peau se rencontrent aussi bien à partir de blastulas qu'à partir d'éléments embryonnaires; il en est de même pour la présence de nodules thyroïdiens.

Quel que soit le protocole expérimental considéré, on observe toutes les variétés de différenciation; les différentes structures histologiques ne sont pas spécifiques d'un protocole particulier. En revanche, ces structures dépendent en grande partie des types de tératomes, c'est-à-dire de l'importance du développement des implants selon qu'ils évoluent en petits tératomes de type I, en tératomes moyens de type II ou en gros tératomes de type III.

La structure de certains tératomes est assez déroutante. On peut observer un assemblage de baguettes cartilagineuses parmi du tissu nerveux ou d'éléments de tissu digestif en présence de vésicules d'ascite, l'ensemble étant limité par un épithélium uni ou pluristratifié ou bien, limité localement par de la peau. Une même série opératoire, c'est-à-dire un groupe d'animaux issus de receveurs du même âge qui reçoivent des implants de même origine au même stade, peut conduire à des tératomes d'autant plus différents que les tissus qu'ils renferment peuvent être nerveux, digestifs ou parfois non-identifiables, le tout noyé dans du tissu conjonctif plus ou moins abondant, les différents tissus étant en quantité fort variable.

Même âgés de plusieurs années, les tératomes de type I ne sont le plus souvent que de simples vésicules ou des tubules dilatés dans un tissu conjonctif lâche, limités par un mince épithélium; il est exceptionnel d'y reconnaître un élément de cartilage. A signaler dans un tératome P.w"P.w" de type I, cinq mois après l'implantation de gastrulas, la présence de nombreuses mitoses dans une structure tissulaire assez dense non identifiable (fig.20).

Toutes les variétés de différenciation se rencontrent dans les tératomes de type II mais un tératome donné ne comporte que deux ou trois sortes de différenciation: par exemple, des tubules rénaux ou du muscle avec du cartilage ou de la peau, ou bien des vésicules thyroïdiennes avec des formations cutanées et du cartilage, ou encore quelques vésicules de tissu nerveux avec du muscle et des amas de mues. Ces dernières formations sont des empilements, à la manière de pelures d'oignon, de 10 à 20 squames cornées à l'intérieur de la tumeur (fig.23). Les diverses formations sont toujours enrobées dans un abondant tissu conjonctif tantôt lâche, parfois très dense. L'âge de la tumeur importe peu puisque de telles formations s'observent aussi bien quatre à cinq mois après l'implantation qu'après plusieurs années.

Malgré leur volume, les tératomes de type III n'ont pas une plus grande diversité histologique, la différence porte sur l'importance des tissus. Certaines grosses tumeurs comportent presque exclusivement du tissu nerveux accompagné parfois d'éléments cartilagineux. Le tissu nerveux se présente sous la forme de vésicules à parois épaisses qui rappellent des ventricules cérébraux mais avec de nombreuses circonvolutions orientées dans tous les sens. Il provient aussi bien des implants de blastulas, et même de morulas, que des implants d'éléments embryonnaires au stade du bourgeon caudal âgé (fig. 22).

D'autres gros tératomes comportent une forte densité de noyaux sans qu'il soit possible de définir la nature des tissus auxquels ils correspondent. Une autre catégorie est constituée en majeure partie d'éléments de tubes digestifs, très contournés avec des grandes villosités à bordure en brosse (fig. 19). Certains gros tératomes montrent des plages cutanées particulièrement évidentes parce que métamorphosées quand il s'agit d'implants Axolotls dans le protocole P.w"Ax" (fig.24), en même temps que du cartilage et du muscle. Le tissu musculaire est toujours peu abondant dans les différents tératomes.

Comme dans les tératomes de type II, on peut observer dans les tératomes de type III des formations de thyroïde avec de nombreuses vésicules dont certaines renferment de la colloïde; leur présence semble plus fréquente dans les tératomes issus d'implants Axolotls (fig.21). Déjà remarqués dans les tératomes moyens, les empilements internes de squames cornées se retrouvent également dans les gros tératomes (fig.23). Enfin quelques tumeurs de type III, et quelquefois de type II, ne sont que des grosses vésicules à parois unicellulaires minces qui renferment seulement une masse amorphe, pratiquement acellulaire avec quelques petits capillaires; la nature tissulaire de ces formations est inconnue.

Les tératomes xénogéniques chimères, issus de l'association de plusieurs implants de deux espèces différentes, sont identifiables histologiquement. L'exemple le plus évident est celui des tératomes P.w"P.w+Ax" dont une partie avec des mélanophores correspond à l'implant Pleurodèle alors que le reste, dépourvu de mélanophores, correspond à la partie Axolotl lorsqu'elle est issue d'une souche albinos.

## 2. Tératomes ou tératocarcinomes?

La malignité d'un tératome conduisant à un tératocarcinome, est-on en présence de tissus cancéreux dans le cas de certains tératomes de type III? Ce

point a son importance compte tenu de la rareté des tumeurs malignes chez les Urodèles. Cette éventualité s'avère possible en regard du volume de certains gros tératomes dont la croissance incontrôlée correspond à une déstabilisation. Celle-ci peut se manifester très tôt puisque des tumeurs à partir d'implants Axolotls sont déjà palpables deux mois après l'inoculation provoquant une déformation de l'hôte Pleurodèle ou Axolotl (fig.7).

En faveur de la malignité des tératomes de type III, on peut remarquer que leur vascularisation est toujours intense, ce qui leur confère parfois une coloration rougeâtre. L'animal affecté d'un tel tératome, s'amaigrit lentement pour atteindre un état de cachexie extrême. Du point de vue cytologique, il est rare d'observer des mitoses en grand nombre, par contre le polymorphisme nucléaire est fréquent avec de nombreux noyaux pycnotiques. Dans le cas de tumeurs histologiquement non-identifiables, les gros noyaux renferment un ou plusieurs nucléoles bien visibles. La présomption est grande pour considérer que certaines grosses tumeurs seraient effectivement des tératocarcinomes. Cependant l'ablation des tératomes ou la greffe de fragments qui n'ont pas donné lieu à la formation de nouveaux tératomes seraient en défaveur de la malignité.

#### IV. DISCUSSION

La formation de tératomes à la suite de l'implantation d'embryons allogéniques ou xénogéniques dans la cavité générale du Pleurodèle et de l'Axolotl a été obtenue chez 386 animaux sur 716 opérés. L'importance de ces tumeurs va depuis les petits éléments qui n'évoluent pas jusqu'aux très grosses formations qui finissent par provoquer la mort de l'hôte.

La présence d'un tératome implique qu'un embryon implanté dans la cavité générale d'un animal de la même espèce ou d'une autre espèce peut poursuivre son développement mais d'une façon très perturbée. Le milieu interne s'il entraîne une évidente tératogenèse, n'entrave pas certaines différenciations.

La première interrogation concerne l'absence ou la présence de telles tumeurs. L'absence de tératomes peut provenir de l'écrasement des embryons dans l'environnement exigü de la cavité générale. Cette éventualité doit être peu fréquente compte tenu des précautions opératoires; elle interviendrait surtout pour les jeunes implants des stades blastulas et gastrulas comme il a pu être constaté. Il est plus vraisemblable que la sérosité interne soit plus ou moins toxique pour les embryons, provoquant assez vite un arrêt de leur développement et leur disparition. Cependant la principale cause de l'absence de tératomes relèverait du degré d'histocompatibilité entre l'hôte et les implants. Ce point est évident en comparant les pourcentages de tératomes xénogéniques dans les différents protocoles. Chez plusieurs animaux sacrifiés quelques semaines après l'implantation, et qui n'ont pas été comptabilisés dans les résultats, il a été remarqué des implants plus ou moins adhérents aux parois péritonéales, ayant un aspect rougeâtre dû à l'infiltration d'éléments sanguins, un peu comme les greffes de peau en cours de rejet aigu. Ces phénomènes de rejet interviennent précocement durant le premier mois après l'implantation. Plus tard, ils passent inaperçus et les animaux hôtes sont considérés comme

dépourvus de tératomes quand ils sont examinés après plusieurs mois comme c'est presque toujours le cas.

Le développement d'un embryon dans la cavité générale d'un animal de la même espèce ou d'une espèce différente est très perturbé. L'aspect tératologique qui en résulte se traduit par une organogenèse désordonnée en dépit de diverses différenciations.

La formation de plusieurs tératomes dans le même animal se conçoit puisque plusieurs embryons sont toujours inoculés en même temps. La présence d'un seul tératome implique soit l'élimination des autres embryons, soit l'agrégation de plusieurs d'entre eux. La formation d'un unique tératome à partir de plusieurs implants est effectivement possible; elle est prouvée avec les deux sortes de plaques cutanées, Pleurodèle et Axolotl, dans les tératomes issus des protocoles expérimentaux mixtes  $P.w^wP.w+Ax^x$  et  $Ax^xAx^x+P.w^w$ , dans les tératomes issus des auto-implantations lorsqu'un grand nombre d'embryons sont inoculés et pour interpréter la formation de plusieurs pattes à la surface d'un tératome. Ces tératomes méritent le qualificatif de "chimère" au même titre que le qualificatif "chimère" s'applique aux Souris tétraparentales obtenues par l'agrégation de blastocystes (Tarkowski 1961, Mintz 1962).

Le contrôle du développement diffère selon les types de tératomes sans que l'on puisse en discerner la cause. Pourquoi certains implants bien tolérés puisqu'ils persistent sans modifier la viabilité de l'hôte, arrêtent-ils très tôt leur évolution pour devenir des tératomes de type I alors que d'autres, souvent chez le même animal, poursuivent leur évolution au même rythme que l'hôte pour conduire à des tératomes de type II et enfin qu'une troisième catégorie a une évolution incontrôlée, plus rapide que celle de l'hôte, pour donner des tératomes de type III? La vascularisation n'intervient guère, car quel que soit le type de tératome, les connexions avec l'hôte peuvent être très intimes ou particulièrement légères quand il n'existe qu'un mince tractus pour relier la tumeur à l'hôte.

On peut concevoir que la croissance d'un tératome de type II réponde au même contrôle harmonieux que la croissance des différents organes de l'hôte. Mais pourquoi des tératomes de type I observés lors d'une laparotomie à quelques mois sont retrouvés exactement dans le même état deux à trois années plus tard? A l'inverse, la croissance incontrôlée des tératomes de type III est encore plus énigmatique. Cette déstabilisation du développement peut intervenir très tôt surtout pour les tératomes issus des implants Axolotls puisque certains jeunes animaux, aussi bien Pleurodèles qu'Axolotls, ont parfois des tumeurs déjà repérables deux à trois mois après l'implantation; leur volume ne fait que s'amplifier avec l'âge jusqu'à déformer l'abdomen de l'hôte (fig. 7). La tumeur semble détourner à son profit toute l'activité métabolique de l'hôte dont elle provoque la cachexie et finalement la mort sauf si son ablation est pratiquée, auquel cas l'animal reprend un développement normal.

L'opportunité de pouvoir classer les tératomes en trois types bien distincts, basée sur le rapport entre le poids de la tumeur et le poids total de l'hôte, est peut-être fortuite mais n'en demeure pas moins énigmatique. Parmi les 48 tératomes pesés et classés de type I, 5 seulement atteignaient 0,9% et 1%; parmi

les 100 tératomes classés de type II, 3 seulement avaient un rapport de 1,5%, pour tous les autres le rapport était supérieur. De même, la différence entre les tératomes de type II et de type III est toujours nette: sur les 100 tératomes pesés de type II, le rapport maximum était de 6% et 7% pour 6 d'entre eux alors que le plus faible rapport pour 57 tératomes classés de type III était 11% pour 3 d'entre eux, il était égal et même supérieur à 40% pour 5 tératomes. Les animaux affectés de ces grosses tumeurs s'alimentent encore mais sont affectés d'une atrophie du foie et deviennent cachectiques.

La morphologie des divers types de tératomes ne dépend guère de l'origine des implants: petites vésicules pour le type I, masse uniforme ou multilobée pour les types II et III avec parfois des membres qui font saillie à la surface. La seule différence est l'aspect blanchâtre, infiltré de capillaires, des tumeurs résultant des implants Axolotls de la souche blanche et surtout des souches albinos qui contraste avec l'aspect sombre des autres tératomes, certains de ces derniers pouvant présenter des plages noirâtres dues à des squames de mues.

Le pourcentage des tumeurs obtenues dans les différents protocoles dépend du degré d'histocompatibilité entre le receveur et les implants embryonnaires. Dans le protocole expérimental allogénique P.w"P.w" et selon les séries opératoires, tous les animaux, quelques-uns ou aucun ne sont affectés de tératomes. Des résultats similaires sont obtenus avec les allogreffes de peau: certaines sont indéfiniment tolérées, d'autres persistent plus ou moins longtemps ou sont rapidement rejetées (Tournefier *et al.* 1969). Le Pleurodèle étant élevé depuis de nombreuses générations au laboratoire, une certaine consanguinité s'est établie, ce qui peut rendre compte d'une histocompatibilité qui se traduit ici par une moyenne de 72% de tératomes pour les 46 séries opératoires P.w"P.w".

Le pourcentage de tératomes le plus élevé se rencontre dans le protocole expérimental Ax"Ax" (233%). Ici également intervient la consanguinité qui est plus marquée que pour les Pleurodèles puisque les Axolotls élevés dans les laboratoires doivent être issus seulement de quelques spécimens originaux. Ceci est encore plus évident pour les Axolotls dont nous avons disposé, surtout pour ceux de la souche albinos qui proviennent dans notre laboratoire, de trois couples dont les parents étaient déjà fortement consanguins. C'est ainsi qu'à partir de six séries opératoires différentes qui comprenaient 26 Axolotls albinos recevant des implants Axolotls albinos, tous les animaux opérés furent affectés de tératomes.

On retrouve à propos des tératomes xénogéniques les mêmes phénomènes d'histocompatibilité relative que ceux déjà rencontrés à propos des xéngreffes embryonnaires (Houillon *et al.* 1969), des parabioses (Houillon 1966) et des chimères (Houillon 1999, 2000). L'Axolotl s'est avéré un "donneur universel" de greffes embryonnaires pour les autres Urodèles mais il ne tolère que des greffes de sa propre espèce.

Les xéngreffes embryonnaires d'Axolotl chez le Pleurodèle et le Triton alpestre sont parfaitement tolérées alors que l'Axolotl rejette pratiquement toutes les xéngreffes embryonnaires de Pleurodèle ainsi que la plupart des xéngreffes de Triton alpestre. La présence des tératomes xénogéniques se

retrouve d'une manière comparable en fonction des degrés d'histocompatibilité interspécifique: les Pleurodèles receveurs d'implants Axolotls sont affectés de tératomes dans 63% des cas (protocole P.w"Ax") alors que les Axolotls receveurs d'implants Pleurodèles ne sont affectés de tératomes que dans 12% des cas (protocole Ax"P.w") (tab. II). L'histocompatibilité entre le Pleurodèle et le Triton alpestre étant très faible, les Pleurodèles receveurs d'implants Tritons alpestres ne sont affectés de tératomes que dans seulement 3% des cas (protocole P.w"alp"). Faute de Tritons alpestres juvéniles, il n'a pas été possible de réaliser le protocole alp"P.w", mais si ce protocole était réalisable, il est vraisemblable que très peu de Tritons alpestres seraient affectés de tératomes Pleurodèles.

Entre l'hôte Axolotl et les xénogreffes Tritons alpestres il existe tout de même une légère histocompatibilité, d'où la possibilité d'obtenir chez les receveurs Axolotls avec des implants Tritons alpestres 87% de tératomes (protocole Ax"alp"). S'il avait été possible de réaliser le protocole alp"Ax", le pourcentage de Tritons alpestres affectés de tératomes Axolotls aurait certainement été assez élevé, du même ordre que celui du protocole P.w"Ax" (63%).

L'histocompatibilité des xénogreffes embryonnaires Axolotls, ici des xénotransplants embryonnaires, a été interprétée en considérant l'Axolotl comme primitif par rapport aux autres Urodèles (Houillon 2001). Il ne posséderait que les gènes d'histocompatibilité communs à la plupart des autres Urodèles, ce qui entraîne sa tolérance interspécifique. La tolérance de l'Axolotl par les autres Urodèles, en particulier par le Pleurodèle, a également été reconnue à propos des xénotransplantations ovariennes (Houillon 1975).

La thymectomie larvaire chez le Pleurodèle provoque une tolérance aux allogreffes de peau (Charlemagne et Houillon 1968). Dans la présente étude, la thymectomie fut pratiquée quelques jours avant l'implantation dans la plupart des protocoles expérimentaux sans pour autant augmenter le nombre d'animaux affectés de tératomes. L'ablation du thymus était probablement trop tardive pour être efficace. En effet, les plus jeunes larves de Pleurodèle thymectomisées étaient au stade 53-54 (environ 9 semaines) alors que dans la tolérance aux allogreffes de peau, elle avait été réalisée avant, ou au plus tard, au stade 52 (moins de 8 semaines). Bien que non précisé pour l'Axolotl, le seuil au-delà duquel l'ablation du thymus cesse d'être efficace sur le rejet de greffe avait probablement aussi été dépassé chez tous les receveurs.

Les différenciations reconnues dans les tératomes de types II et III, avec parfois une ébauche d'organogenèse, ne sont pas spécifiques d'un stade particulier des implants. Des membres se forment aussi bien à partir des implants de blastulas, bien que moins souvent, qu'à partir des implants d'éléments embryonnaires du stade 31-32. Les jeunes implants poursuivraient un certain temps un développement plus ou moins harmonieux jusqu'à celui atteint par les implants âgés. Quel que soit le stade des implants, il y aurait une période de développement normal, plus longue pour les jeunes embryons que pour les embryons âgés, au cours de laquelle se détermineraient certaines structures. Une fois atteint cet état, le développement ne pourrait se poursuivre

que d'une manière désordonnée. Cependant le progrès de la détermination différerait selon les structures: il pourrait être pratiquement complet pour conduire à l'édification d'un membre de même qu'à une organogenèse cardiaque, il s'arrêterait ou serait dévié très tôt de la voie normale pour des organogenèses où interviennent des tissus cartilagineux, digestifs, nerveux et même endocriniens. La présence de baguettes de cartilage orientées dans tous les sens, d'ébauches de tube digestif avec des villosités mais dans un ordre quelconque, de formations nerveuses à la manière de ventricules cérébraux mais avec de nombreuses circonvolutions de toutes tailles, attestent d'une déficience en facteurs d'organogenèse. La formation d'éléments thyroïdiens noyés dans un tissu conjonctif est troublante quand il n'y a pas d'autres formations endodermiques dans le tératome.

La détermination privilégiée de certaines structures se ferait d'une manière aléatoire en inhibant la détermination des autres structures. Une certaine coordination dans la suite des événements est tout de même nécessaire pour arriver à l'édification d'une patte ou pour former un coeur dont les battements sont coordonnés avec ceux de l'hôte. Il en est de même pour constituer des plages de peau comprenant derme, épiderme avec des glandes et des mues qui desquament régulièrement. Bien qu'assez exceptionnelle, la présence d'une gonade nécessite une cascade d'interactions pour se terminer par la différenciation d'un ovaire. Enfin par quels mécanismes s'établit et surtout se poursuit l'active circulation sanguine à l'intérieur des gros tératomes reliés à l'hôte par un mince tractus? Autant de phénomènes qui montrent la singularité de la formation d'un tératome.

La croissance incontrôlée des tératomes de type III, véritable déstabilisation du développement, se rencontre dans les divers protocoles expérimentaux; elle est indépendante de l'âge du receveur au moment de l'implantation et s'observe aussi bien pour les implants de blastulas que pour les implants d'éléments embryonnaires. La première condition pour aboutir à un tératome de type III est la tolérance de l'implant. Celle-ci est déjà indispensable pour les tératomes de type I qui pourtant cessent très tôt de s'accroître, il en est de même pour les tératomes de type II dont la croissance se poursuit régulièrement. Pour les gros tératomes déstabilisés, il serait nécessaire en plus que s'instaure une déficience immunitaire de l'hôte ainsi qu'on le conçoit lors de la formation et de la prolifération des tumeurs malignes. Cette immunodéficience est attestée indirectement par la plus grande sensibilité aux affections bactériennes et fongiques des animaux présentant un gros tératome.

Les ablations de tumeurs avaient été faites en vue de vérifier l'existence éventuelle de métastases. Les greffes de fragments de tumeur dans des hôtes sains thymectomisés avaient pour objectif d'obtenir la poursuite de leur croissance comme dans les tumeurs initiales déstabilisées. N'ayant abouti qu'à des résultats négatifs, ces deux groupes d'interventions seraient en défaveur de la malignité des tératomes de type III. Cependant il n'a jamais été démontré que les tumeurs malignes chez les Urodèles, déjà particulièrement rares, soient capables d'émettre des métastases à l'origine de néo-formations. On peut aussi remarquer que les fragments de tumeur retrouvés plusieurs années après leur

greffe provenaient le plus souvent de tumeurs qui avaient une consistance dure, due à la présence de cartilage. De plus, si ces fragments n'ont pas reconstitué des tératomes chez les Pleurodèles ou les Axolotls thymectomisés, c'est que, comme il a déjà été indiqué par ailleurs, l'ablation des thymus devait être trop tardive pour être efficace. Dès lors, les défenses immunitaires des animaux greffés demeurant intactes ont empêché la prolifération de tumeurs malignes.

Compte tenu de la croissance incontrôlée des tératomes de type III et de leur volume par rapport aux autres types de tératomes ainsi que de l'amaigrissement progressif des animaux qui en sont affectés ou du retard de leur développement lorsque la déstabilisation intervient assez tôt, on peut considérer que la plupart de ces grosses tumeurs sont effectivement des tératocarcinomes. La suspicion de malignité se trouve renforcée par leur intense vascularisation de même que par la présence de noyaux polymorphes dont les plus volumineux renferment des gros nucléoles alors que dans le même tissu se trouvent de nombreux petits noyaux pycnotiques.

La présente étude s'est limitée à la description des tumeurs. Compte tenu des observations effectuées et des problèmes soulevés, l'étude des tératomes produits expérimentalement chez les Amphibiens Urodèles mériterait d'être poursuivie plus avant sur des bases moléculaires. Quels sont les gènes qui s'expriment préférentiellement pour favoriser l'émergence de certaines structures et quels sont ceux dont la répression entraîne l'absence d'organogenèse? La mise en évidence de ces gènes et l'étude de leur régulation permettraient d'interpréter la genèse d'un tératome et, éventuellement, d'un tératocarcinome dont l'intérêt réside dans l'identité de caractère entre cellules embryonnaires et cellules tumorales. D'une manière plus générale, la compréhension des perturbations du développement qui conduisent à un tératome, pourrait apporter de nouvelles informations sur les mécanismes de l'organogenèse normale. On rejoint ici les préoccupations embryologiques les plus actuelles grâce à une voie de recherche originale d'autant plus prometteuse que les Amphibiens Urodèles offrent des opportunités expérimentales à nul autre Vertébré comparable.

**Remerciements.** Grâce à l'obligeance du Professeur Alain Dubois et de Madame Annemarie Ohler, les pièces anatomiques des diverses expériences ont pu être classées et conservées en zoothèque où elles sont enregistrées sous les numéros de collection MNHN 1997, 6600-8200 au laboratoire des Reptiles et Amphibiens du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris. Mes remerciements vont également à Madame Monique Guimonneau pour la dactylographie, à Madame Hélène Vieillot pour les microphotographies et à Monsieur Claude Pieau pour son aide efficace.

## V. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Asashima M., Oinuma T. & Meyer-Rochow V.B. 1987 - Tumors in Amphibia. *Zool. Sci.*, 4: 441-425.

Balls M. & Clothier R.H. 1982 - The significance of amphibians neoplasms: unresolved conflicts of emphasis. In: Comptes Rendus premier Colloque international de Pathologie des Reptiles et des Amphibiens, Angers. pp. 137-139.

Charlemagne J. & Houillon Ch. 1968 - Effets de la thymectomie larvaire chez l'Amphibien Urodèle, *Pleurodeles waltlii* Michah. Production à l'état adulte d'une tolérance aux homogreffes cutanées. C. R. Acad. Sci. Paris, série D, 267: 253-256.

Condamine H. 1980 - Le tératocarcinome de la souris: origine et relation avec les cellules embryonnaires précoces. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 20(2): 499-522.

Darquenne J. 1976 - Réaction de défense cellulaire après implantation de cellophane et de méthylcholanthrène chez *Triturus alpestris* Laur. et *Pleurodeles waltlii* Michah. (Amphibiens, Salamandridés). *Bull. Soc. zool. Fr.*, 101: 647-650.

Gallien L. & Durocher M. 1957 - Table chronologique du développement chez *Pleurodeles waltlii* Michah. *Bull. biol. Fr. Belg.*, 91: 97-114.

Houillon Ch. 1966 - Métamorphose et tolérance dans la parabiose hétérogène chez les Urodèles. C. R. Acad. Sci. Paris, série D, 262: 136-138.

Houillon Ch. 1975 - Evolution des xénogreffes de gonades embryonnaires et des ovaires juvéniles d'*Ambystoma mexicanum* Shaw, transplantés sur *Triturus alpestris* Laur. C. R. Acad. Sci. Paris, série D, 281: 171-174.

Houillon Ch. 1988 - Production de tératomes à partir d'implants embryonnaires allogéniques chez l'Amphibien Urodèle, *Pleurodeles waltlii* Michah. C. R. Acad. Sci. Paris, série III, 306: 213-219.

Houillon Ch. 1989 - Tératomes expérimentaux à partir d'implants embryonnaires allogéniques et xénogéniques chez l'Amphibien Urodèle, *Pleurodeles waltlii* Michah. C. R. Acad. Sci. Paris, série III, 308: 229-236.

Houillon Ch. 1999 - Les urodèles chimères. I. Aspect morphologique. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 124 (1): 3-37.

Houillon Ch. 2000 - Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 125 (2): 87-123.

Houillon Ch. 2001 - Quatre décennies d'expérimentation embryologique chez les Amphibiens Urodèles. *Alytes*, 18 (3-4): 97-126.

Houillon Ch., Tournefier A. & Charlemagne J. 1969 - Antigénicité relative des hétérogreffes embryonnaires de tégument chez les Amphibiens Urodèles: *Ambystoma mexicanum* Shaw, *Triturus helveticus* Raz., *Triturus alpestris* Laur. et *Pleurodeles waltlii* Michah. C. R. Acad. Sci. Paris, série D, 268: 2982-2985.

Matz G. 1982 - Tumeurs spontanées et expérimentales observées chez *Triturus alpestris* (Laurenti) (*Salamandridae*). In: Comptes Rendus premier Colloque international de Pathologie des Reptiles et des Amphibiens, Angers. pp.129-133.

Mintz B. 1962 - Formation of genotypically mosaic mouse embryos. *Amer. Zool.*, 2: 432.

Plaçais D. 1974 - Transplantation d'une tumeur spontanée découverte chez l'Amphibien Urodèle, *Pleurodeles waltlii* Michah. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 99: 283-295.

SchreckenberG G.M. & Jacobson A.G. 1975 - Stades du développement de l'Axolotl, *Ambystoma mexicanum* Shaw. *Develop. Biol.*, 42: 391-400.

Tarkowski A.K. 1961 - Mouse chimaeras developed from fused eggs. *Nature*, 190: 857 - 860.

Tournefier A., Charlemagne J. & Houillon Ch. 1969 - Evolution des homogreffes cutanées chez l'Amphibien Urodèle *Pleurodeles waltlii* Michah.: réponses immunitaires primaire et secondaire. C. R. Acad. Sci. Paris, série D, 268: 1456-1459.

Tsonis P.A. & Del Rio-Tsonis K. 1988 - Spontaneous Neoplasms in Amphibia. *Tumor Biol.*, 9: 221-224

Manusrit accepté le 13 juin 2002

## The Loggerhead turtle nesting activity in Kuriat islands (Tunisia) in 2001

by

Imed JRIBI <sup>(1)</sup>, Mohamed Nejmeddine BRADAI <sup>(2)</sup>  
& Abderrhmen BOUAIN <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> *Faculté des Sciences de Sfax BP 802, Sfax 3018, Tunisie .*  
*Jribi.Imed@edunet.tn*

<sup>(2)</sup> *Institut National des Sciences et Technologie de la Mer (INSTM) BP1035,*  
*Sfax 3018, Tunisie . mednejmeddine.bradai @instm.rnrt.tn*

<sup>(3)</sup> *Faculté des Sciences de Sfax BP 802, Sfax 3018, Tunisie.*  
*Abderrah.Bouain@fss.rnu.tn*

**Abstract** - The Kuriat islands which lie 18 Km from the coast of Monastir, represent the most important nesting site of the Loggerhead turtle *Caretta caretta* in Tunisia. The beaches of the two islands have been monitored since 1997. The results in 2001 showed that this site is favourable for nesting activity, like previously years. However it faces several problems, among them intense fishing activity and the large number of humans visiting the site.

**Key-words:** Turtle; *Caretta caretta* ; Monitoring; Kuriat islands; Nesting

**Résumé** - Nidification de la tortue caouanne aux îles Kuriat (Tunisie) en 2001. Parmi les espèces de tortues marines qui apparaissent dans les eaux tunisiennes, seule la caouanne *Caretta caretta* nidifie en Tunisie. Les îles Kuriat qui se trouvent au large de la ville de Monastir représentent le site de nidification le plus important. Ce site fait l'objet d'un monitoring depuis 1997 dans le but de protéger les nids, les femelles nidifiantes, les nouveau-nés et de déterminer certains paramètres de reproduction nécessaires à toutes activités de conservation (Période de ponte, Taille de ponte, fréquence de ponte, Taux de fertilité, d'éclosion et d'émergence...). Au cours de l'année 2001, 12 nids ont été détectés. Ces nids sont déposés pendant les mois de juin et juillet. 2 femelles dont la longueur moyenne est de 77,5 cm ont été marquées. La taille de ponte moyenne est de 102,33 œufs/nids. Les taux d'éclosion et d'émergence sont respectivement 65,31% et 61,24%. Ces résultats montrent que le site est favorables à la nidification. Toutefois, il fait face à certains problèmes dont les plus importants sont la fréquentation du site par les estivants et les touristes et l'activité de pêche au alentour des îles.

**Mot-clés:** Tortue; *Caretta caretta* ; Monitoring; Iles Kuriat; Nidification

### I. INTRODUCTION

The loggerhead (*Caretta caretta*) is common in Tunisian waters and reproduces on some beaches (Laurent *et al.* 1990; Bradai 1995). The Kuriat islands (35° 48'05"N/ 11° 02'05"E) lie 18 Km from the coast of Monastir and represent the most important nesting site of this species in Tunisia. Kuriat islands consist of a two small islands: Little Kuriat (Kuria sgira) which is *ca.* 0.7 Km<sup>2</sup> and the larger Great Kuriat (Kuria Kbira) which is *ca.* 2.7 Km<sup>2</sup> in

area. Little Kuriat, has a total of 800 m of sandy beach situated in the north-eastern part of the island whereas the rest of the coastline is rocky or marshy. Almost one third of the Great Kuriat shoreline is rocky with some sandy portions that can shelter nests, and enormous deposits of *Posidonia oceanica* detritus further restrict accessible nesting sites (Bradai 1996). The principal nesting beach lies on the western coast and is almost 900 m in length.

## II. MATERIAL AND METHODS

The beaches of both islands have been monitored since 1997 to enumerate and protect nests, nesting females and hatchlings, and determine reproductive parameters. A full-time encampment usually takes place from the beginning of June to the end of August. Numerous short visits are made in May to detect any early nesting, and in September and October to excavate late hatching nests. For logistical reasons, our principal mission in 2001 was carried out full time from 09-07-2001 to 31-08-2001.

On Great Kuriat, beaches were patrolled throughout the night and any females observed were tagged with blue plastic Duo-tags (RAC/SPA); morphometric measurements were taken after laying. All nests recorded were protected by metal cages, which also served to facilitate awareness to the general public. In Little Kuriat, monitoring visits were made once or twice a week. After the excavation of hatched nests it was possible to calculate: clutch size, fertility rate (percentage of fertile eggs), hatching success (percentage of eggs hatched), emergence success (percentage of hatchlings emerged), and gather hatchling morphometric parameters.

## III. RESULTS

In 2001, we detected 12 nests: 7 on the principal beaches of Great Kuriat island situated on the north-western coasts, 4 in the south-eastern beach and 1 on a dune behind a small sandy beach limited by the rocky coast in the north. All 12 nests were laid in June and July. This two month nesting season is consistent with results from previous campaigns ( Jribi *et al.* 2001a, 2001b & 2002).

Only 2 females were tagged and measured. The SCCLs (Standard Curved Carapace Length) were respectively 74 cm and 81 cm and the CCWs (Curved Carapace Width) were 66 cm and 69 cm. One female had been observed and tagged preceding years, but the part of the tag with the number was not found. Based on size, this turtle would have been marked two years previously. Remigration intervals are thus two years based on data of previous years when the number of nests fluctuated with a two years periodicity (Fig. 1) (Bradai 1996 and 2000).The mean clutch size was 102.33 eggs (Table I).

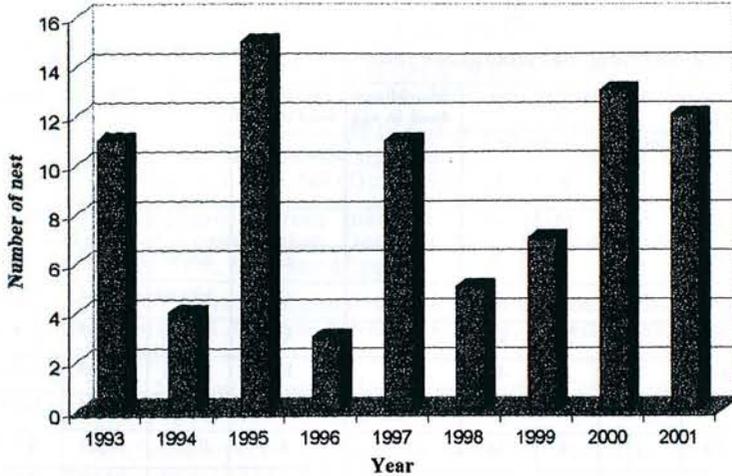


Figure 1: The yearly number of nest on the great Kuriat (Bradai 1996, 2000)

#### IV. DISCUSSION

This number of eggs/clutch is more important than found in Cyprus and Turkey (Broderick 1997; Erk'Akan 1993) but a little less than found in Greece (Margaritoulis *et al.* 1996). The total number of eggs was 1228 in the 12 nests. Of these 1039 (84.6%) were fertile, 802 (65.31%) hatched and 752 (61.24%) emerged. The hatching success was good but less than found previously (90.73% in 1997; 74% in 1998 and 66.29% in 1999) (Bradai 2000). The bad location of two nests (4 and 9) would be responsible for this decline. Nest 4 was deposited in the south, on a portion of very moist beach and eggs at the bottom touched to water. These eggs had been attacked by earthworm. Nest 9 was deposited in the north in a bad position on a dune where sand was mixed with fragment of dead *Posidonia oceanica* leaves. Eggs were very close to the surface, and attacked by ants and other insects. However, the beaches of Great Kuriat stay favourable for nesting and the data reveal their suitability according to Hirth (1980).

Following emergence, we examined a sample of 233 hatchlings. The average of length was 4.14 cm (range: 3.9-4.5, SD=0.11) and the average of width was 3.17 (range: 2.75-3.5, SD=0.12). The most frequent scute combination found was the one with 5 vertebrals, 5 pairs of costals, 12 pairs of marginals and 3 pairs of inframarginals (Jribi *et al.* 2001a and b).

Nesting activity in the Little Kuriat was reported for the first time in 1993, when 7 tracks were detected. This activity was also recorded in 1995 (1 nest) and 1996 (1 nest) (Bradai 1995 and 1996). During our monitoring operations undertaken since 1997, no nests have been detected at this site. The beaches here are heavily used by humans and disturbance of the sand may have impeded detection of turtle tracks or nests.

Table I : The fertility, hatching and emergence rates on the great Kuriat island (2001)

N° of nest	Clutch size	Hatched eggs	Non Hatched eggs			Hatchlings dead in egg	Hatchlings dead in nest	Fertility	Hatching	Emergence
			Unfertile	Fertile						
				E	L					
1	115	82	4	17	9	3	1	96,52	73,91	70,43
2	120	68	42	6	3	1	0	65,00	57,50	56,67
3	124	114	0	7	2	1	0	100,00	92,74	91,94
4	60	14	7	11	26	2	0	88,33	26,67	23,33
5	130	60	10	8	43	9	10	92,31	53,08	38,46
6	115	67	12	15	17	4	3	89,57	61,74	55,65
7	76	38	11	4	16	7	4	85,53	59,21	44,74
8	99	93	2	2	1	1	0	97,98	94,95	93,94
9	103	36	26	26	14	1	0	74,76	35,92	34,95
10	132	119	10	3	0	0	2	92,42	90,15	88,64
11	89	20	65	4	0	0	0	26,97	22,47	22,47
12	65	62	0	3	0	0	1	100,00	95,38	93,85
Total	1228	773	189	106	131	29	21	-	-	-
Average	102.33	64.42	15.75	8.83	10.92	2.42	1.75	84.12	63.64	59.59
SD	24.89	33.8	19.59	7.25	13.25	2.91	2.93			

E : Early mortality

L : Late mortality

Great Kuriat is actually the most important nesting site of *Caretta caretta* in Tunisia. During the last two seasons relatively high numbers of nests were recorded. It is important to underline the indispensable role of the seasonal encampment in protecting the site, which faces several problems: the accumulation of dead *Posidonia oceanica* leaves on the beach, large numbers of human coast users visiting the islands by day, in organised trips, which may disturb the nests. Indeed intense fishing activity near the site may hinder females from reaching the beach to lay and catch hatchlings on their way to sea. To counter the last threat, hatchlings are not released when fishing boats are observed close to the island.

**Acknowledgments:** We wish to thank the APAL (Agence de Protection et Aménagement du Littoral), the INSTM (Institut National des Sciences et Technologies de la Mer) and the RAC/SPA (Regional Activity Centre For Specially Protected Areas) and all volunteers have participated on the field.

## V. REFERENCES

- Bradai M.N. 1995 - La nidification de la tortue marine *Caretta caretta* dans le Sud-Est de la Tunisie. *Rapp. Comm. int. Mer Medit.*, 34 : 237
- Bradai M.N. 1996 - La nidification de la tortue marine *Caretta caretta* aux îles Kuriat. Deuxièmes journées tunisiennes des sciences de la mer (Sousse, 16-18 décembre 1996). *Bull. Inst. Natn. Scien.Tech. Mer*, NS (3) : 68 - 71.
- Bradai M.N. 2000 - Les tortues marines en Tunisie . Etat de connaissances et recommandation de conservation. *Deuxième Thèse. Thèse de Doctorat d'Etat Es-Sciences Naturelles Univ. Sfax, Fac. Sci. Sfax*: 47 pp
- Broderick A.C. 1997 - The reproductive ecology of marine turtles, *Chelonia mydas* and *Caretta caretta*, nesting at Alagadi, Northern Cyprus, eastern Mediterranean. *PhD thesis. University of Glasgow*.
- Erk'Akan F. 1993 - Nesting biology of loggerhead turtles *Caretta caretta* on Dalyan beach, Mugla-Turkey. *Biological Conservation*, 66: 1- 4.
- Hirth H.F. 1980 - Some aspects of the nesting Behaviour and reproductive biology of sea turtles. *Amer zool.*, 20: 507-523.
- Jribi I., Bradai M.N. & Bouain A. 2001a - Quatre ans de suivi de la nidification de la tortue marine *Caretta caretta* aux îles Kuriat (Tunisie). *Rapp. Comm. int. Mer Medit.*, 36
- Jribi I., Bradai M.N. & Bouain A. 2001b - The Loggerhead Turtle Nesting Activity in Tunisia. *Proceedings of the Fifth International Conference on the Mediterranean Coastal Environment*. Erdal Ozan (Ed), Volume 1:189-194
- Jribi I., Bradai M.N. & Bouain A., 2002 - Marine Turtles nesting in Kuriat islands (Tunisia) in 2000. *Marine Turtle Newsletter. In press*
- Laurent L., Nouria S., Jeudy De Grissac A. & Bradai M.N. 1990 - Les tortues marines de Tunisie : Premières données. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 53 : 1-17.
- Margaritoulis D., Pappa C & Hiras G. 1996 - Conservation work at the nesting areas of *Caretta caretta* on Peloponnesus during 1995 (Kyparissia Bay, Lakonikos Bay, Strophilia-Kotychi). *Report to WWf-Greece on project 0034.03 Sea Turtle Protection Society, Athens, Greece*.

*Manuscrit accepté le 25 avril 2002*



## Note sur le statut et la répartition de quelques Leptotyphlopides (Serpentes; Scolecophidia) du Sahara et des savanes d'Afrique de l'Ouest

par

Jean-François TRAPE

Institut de Recherche pour le Développement (IRD, anciennement ORSTOM),  
Laboratoire de Paludologie, Centre de Dakar, B.P. 1386, Dakar, Sénégal.  
E-mail : trape@ird.sn

**Résumé** – La collecte au Sénégal d'un *Leptotyphlops* remarquable à museau recourbé nous a conduit à revoir la littérature sur ce genre et à réexaminer des spécimens d'Afrique du Nord et d'Afrique de l'Ouest conservés dans différentes institutions. *Leptotyphlops adleri*, connu jusqu'à présent uniquement du Tchad, est retrouvé au Sénégal. Cette espèce semble avoir une large distribution en zone de savane soudanienne où la plupart des précédentes mentions de *L. macrorhynchus* pourraient lui être rapportées. *L. algeriensis*, longtemps placé dans la synonymie de *L. macrorhynchus*, est rétabli au rang d'espèce. Très distinct des autres Leptotyphlopides par son museau pointu et son corps très grêle, *L. algeriensis* est rencontré dans le Sahara occidental et central. *L. bilmaensis*, *L. fitzingeri*, *L. braccianii* et *L. variabilis* sont placés dans la synonymie de *L. cairi*. *L. erythraeus*, précédemment placé dans la synonymie de *L. macrorhynchus* est très probablement une espèce valide. Le statut de *L. macrorhynchus* -dont le type est détruit- apparaît désormais incertain.

**Mots-clés:** Serpents, *Leptotyphlops*, *L. adleri*, *L. algeriensis*, *L. bilmaensis*, *L. braccianii*, *L. cairi*, *L. erythraeus*, *L. fitzingeri*, *L. macrorhynchus*, *L. variabilis*, Afrique, systématique.

**Summary** – Notes on the status and distribution of some Leptotyphlopidae (Serpentes, Scolecophidia) from the Sahara and West Africa savannahs. Following the capture in Senegal of a remarkable specimen of *Leptotyphlops* with a hooked snout, we re-examined the literature on this genera, and studied a series of specimens from West and North Africa deposited in several institutions. *Leptotyphlops adleri*, which was previously known only from Tchad, is also present in Senegal. This species seems to be widely distributed in sudanese savannahs where *L. macrorhynchus* previously mentioned could be attributed to it. *L. algeriensis*, long considered a synonym of *L. macrorhynchus*, is reestablished as a full species. It differs markedly from all other Leptotyphlopidae by its slender body and sharp-pointed snout. The range of *L. algeriensis* covers western and central Sahara. *L. bilmaensis*, *L. fitzingeri*, *L. braccianii* and *L. variabilis* are considered as synonyms of *L. cairi*. *L. erythraeus*, previously considered a synonym of *L. macrorhynchus* is very probably a valid species. The status of *L. macrorhynchus* -whose type was destroyed- appears uncertain.

**Key-words:** Snakes, *Leptotyphlops*, *L. adleri*, *L. algeriensis*, *L. bilmaensis*, *L. braccianii*, *L. cairi*, *L. erythraeus*, *L. fitzingeri*, *L. macrorhynchus*, *L. variabilis*, Africa, systematics.

### I. INTRODUCTION

Peu de travaux ont été consacrés aux serpents du genre *Leptotyphlops* en Afrique, sans doute en raison de la relative rareté dans les collections de la plupart des espèces de ce genre et de leur petite taille qui rend délicate l'étude

de leurs caractères méristiques. Broadley & Watson (1976) ont effectué une révision des espèces du Sud-Est de l'Afrique et Hahn (1978) une révision de celles d'Asie et du Nord-Est du continent africain. Une clé de détermination pour l'ensemble des espèces africaines a été établie par Meirte (1992). Pour l'Afrique de l'Ouest, les seules contributions importantes depuis les synthèses de Villiers (1975), de Hahn (1980) et de Hughes (1983) sont le travail de Hallermann & Rödel (1995), qui a permis la description de *L. albiventer* de Côte d'Ivoire, et surtout l'important manuscrit inachevé de Hahn & Roux-Estève (1979), publié récemment par Hahn & Wallach (1998) et Wallach & Hahn (1998), qui commentait le statut de nombreux Leptotyphlopides et comportait la description de deux espèces nouvelles, *L. broadleyi* et *L. adleri*.

Au Sénégal, nous avons entrepris ces dernières années d'importantes collectes de serpents. Dans un lot de 1280 spécimens capturés dans la région de Bandafassi (département de Kédougou dans le sud-est du Sénégal ; collection conservée au Centre IRD de Dakar), le genre *Leptotyphlops* était représenté par trois spécimens dont l'un présentait un museau recourbé, fortement évocateur de *L. macrorhynchus*, mais aussi une queue allongée, incompatible avec les données publiées sur cette espèce. Ceci nous a conduit à des recherches bibliographiques approfondies et à réexaminer des spécimens provenant d'Afrique du Nord et de l'Ouest conservés dans différentes institutions en France et au Sénégal. Les résultats de ces recherches sont l'objet de cette note.

## II. ETUDE SYSTEMATIQUE

### A. *Leptotyphlops adleri* Hahn & Wallach, 1998

1979 *Leptotyphlops adleri* - Hahn & Roux-Estève, Document non publié, 26, fig. 9.

1998 *Leptotyphlops adleri* Hahn & Wallach, *Hamadryad*, 23 : 51, fig. 1. Localité-type : Bongor, Tchad. Holotype : MNHN 1978.1910.

Spécimens examinés : MNHN 2000.2515 (numéro de terrain IRD: 3069), spécimen de sexe femelle récolté en 1993 à Ibel, Sénégal oriental (12°31'N, 12°23'W), par un paysan de ce village qui l'a remis à l'auteur (Fig. 1) ; MNHN 1978.1910 (holotype), Bongor, Tchad ; MNHN 1978.1911-1912 (paratypes), Bongor, Tchad.

### 1. Description

Le spécimen du Sénégal présente les caractéristiques suivantes : longueur totale (LT) 122 mm, longueur de la queue (LQ) 16 mm, diamètre du corps (DC) 1,5 mm, rapport LT/LQ 7,6, rapport LT/DC 81. En vue latérale, le museau est allongé et légèrement recourbé vers le bas, la rostrale présentant une concavité pré-orale. L'oculaire présente une base large qui borde la bouche. L'œil, de grande taille, est parfaitement visible sous la partie supérieure de l'oculaire. Il existe une seule supralabiale antérieure de petite taille, sa largeur au niveau de la lèvre étant environ quatre fois inférieure à celle de l'oculaire. La supralabiale postérieure atteint presque en hauteur le niveau inférieur de

l'œil. La nasale est entièrement divisée. La largeur de la nasale et de l'oculaire sont à peu près égales. La pariétale et l'occipitale ne sont pas divisées, et cette dernière est nettement plus petite que la première. En vue dorsale, l'arrière de la rostrale n'atteint pas le niveau du bord antérieur des yeux. La rostrale est séparée des supraoculaires par une préfrontale. L'interpariétale est plus grande que la frontale et la préfrontale. Le nombre d'écailles longitudinales en vue dorsale entre la rostrale et l'extrémité de la queue est de 315; le nombre d'écailles sous-caudales est de 41. Le nombre de rangées transversales est de 14 au niveau du corps et de 10 au milieu de la queue. La coloration après conservation dans le formol puis l'alcool est beige dorsalement et blanchâtre sur le dessous du corps et de la queue.

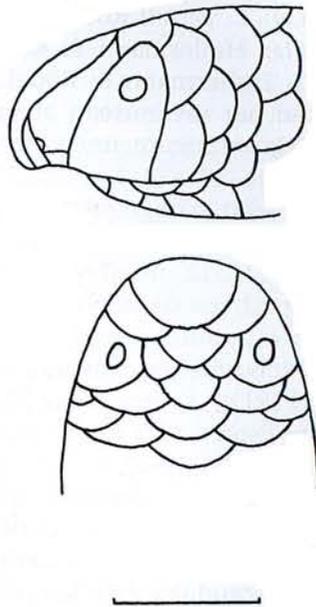


Figure 1. Schéma de la tête de *Leptotyphlops adleri* en vue dorsale et latérale. MNHN 2000.2515, Ibel, Sénégal.

## 2. Commentaires

Ce spécimen du Sénégal est remarquable par la forme légèrement recourbée de son museau (Fig. 2), une queue fortement allongée et un nombre élevé de sous-caudales qui le rapprochent à la fois du groupe *macrorhynchus* et du groupe *longicaudus* de Hahn (1978).

Le groupe *macrorhynchus*, qui comprend les espèces *L. macrurus* (Boulenger, 1903), *L. filiformis* (Boulenger, 1899), *L. macrorhynchus* (Jan, 1861) et *L. hamulirostris* (Nikolski, 1907), est caractérisé par un museau allongé plus ou moins fortement recourbé vers le bas avec présence d'une concavité pré-orale,

l'existence d'une préfrontale, une seule supralabiale antérieure, 10 rangs d'écaillés au milieu de la queue et -à l'exception de *L. macrurus* de l'Île Socotra- une forme allongée du corps, le rapport LT/DC étant compris entre 57 et 143. Notre spécimen est facilement distinguable de *L. macrurus* par le nombre d'écaillés longitudinales et le rapport LT/DC (respectivement 315 versus 257-277 et 81 versus 35-45 chez cette dernière espèce), de *L. filiformis* par le nombre d'écaillés longitudinales (315 versus 479-487), de *L. macrorhynchus* par le rapport LT/LQ (7,6 versus 10,0-14,3) et de *L. hamulirostris* par le nombre d'écaillés longitudinales et le rapport LT/LQ (respectivement 315 versus 351-389 et 7,6 versus 10,1-13,5) (Hahn 1978).

Le groupe *longicaudus* comprend les espèces *L. wilsoni* Hahn, 1978, *L. cairi* (Duméril et Bibron, 1844), *L. boulengeri* (Boettger in Voelzkow, 1913), *L. longicaudus* (Peters, 1854), *L. narirostris* (Peters, 1867), *L. boueti* (Chabanaud, 1917), *L. nigricans* (Schlegel, 1839), *L. perreti* Roux-Estève, 1979, *L. reticulatus* (Boulenger, 1906) et *L. albiventer* Hallermann & Rödel, 1995 (Hahn 1978, Roux-Estève 1979, Meirte 1992, Hallermann & Rödel 1995, Trape & Mane 2000). Ce groupe est caractérisé par un museau arrondi, l'existence d'une préfrontale, une seule supralabiale antérieure, une nasale divisée et une queue proportionnellement longue avec 10 rangs d'écaillés en son milieu. A l'exception de *L. cairi*, dont le museau allongé peut parfois prêter à confusion, toutes ces espèces sont facilement distinguables de notre spécimen par le simple aspect du museau en vue latérale. Le nombre de sous-caudales permet également de distinguer notre spécimen de la plupart des espèces du groupe *longicaudus*, soit en fonction du maximum connu pour ce nombre: *L. cairi* 36 (Roux-Estève 1979), *L. boueti* 36 (observation personnelle sur 17 spécimens du Sénégal de la collection de l'IRD), *L. nigricans* 33, *L. narirostris* 32, *L. reticulatus* 32, *L. debilis* 31 (Roux-Estève 1979 et communication personnelle), *L. albiventer* 30 (Hallermann et Rödel 1995), *L. boulengeri* 18 (Hahn 1978), soit en fonction du minimum connu pour ce nombre: *L. wilsoni* 47 (Hahn 1978), *L. perreti* 49 (Roux-Estève 1979). Seul *L. longicaudus*, dont la répartition connue s'étend de l'Afrique du Sud aux régions côtières du Kenya (Broadley & Watson 1976), présente un nombre de sous-caudales dont la variabilité connue recoupe celle de notre spécimen. Toutefois, outre la forme du museau et l'absence de cavité pré-orale, un autre caractère distinctif les sépare: la largeur de l'oculaire par rapport à la largeur de la supralabiale antérieure, celle-ci étant environ quatre fois supérieure chez notre spécimen au lieu de deux fois chez *L. longicaudus* (Broadley & Watson 1976).

Notre spécimen est similaire aux trois exemplaires connus de *L. adleri*, espèce découverte dès 1977 par Mme Roux-Estève et ainsi dénommée en 1979 (Hahn et Roux-Estève 1979). La description détaillée et illustrée de *L. adleri*, qui avait initialement été incluse par Mme Roux-Estève dans un important manuscrit resté inachevé (Hahn & Roux-Estève 1979), a été publiée récemment sous la signature de Hahn & Wallach (1998) qui ont produit une version abrégée du manuscrit de 1979 sans y associer le co-auteur initial. Nous avons examiné l'holotype et les deux paratypes de *L. adleri*, qui sont tous les trois originaires de Bongor au Tchad. Outre une forme identique du museau (Fig. 3)



---

**Figure 2.** Photographie de la tête de *Leptotyphlops adleri* en vue latérale.  
MNHN 2000.2515, Ibel, Sénégal.

**Figure 3.** Photographie de la tête du paratype de *Leptotyphlops adleri* en vue latérale.  
MNHN 1978.1911, Bongor, Tchad.

---

et des écailles céphaliques, le rapport LT/LQ (7,1-8,5), le nombre d'écailles longitudinales (311-314) et le nombre d'écailles sous-caudales (42-44) des deux spécimens intacts du Tchad pour lesquels ces caractères sont mesurables, sont remarquablement proches de ceux du spécimen du Sénégal. Par ailleurs, Bongor et Ibel, bien que distants de plus de 3000 km, sont deux localités situées en zone de savane soudanienne.

## **B. *Leptotyphlops algeriensis* (Jacquet, 1896)**

1896 *Glauconia algeriensis* Jacquet, *Bibliog. Anat.* 4 : 79-81, figs. 1-3.  
Localité-type : Hammam Salahin, 6 km au nord de Biskra, Algérie.

1980 *Leptotyphlops macrorhynchus macrorhynchus* - Hahn, *Das Tierreich* 101 : 20.

1998 *Leptotyphlops macrorhynchus algeriensis* - Hahn & Wallach, *Hamadryad*, 23 : 55.

Spécimens examinés : MNHN 1932.158 (Agadez, Niger), MNHN 8648 (Beni-Abbès, Algérie), MNHN 8648 A (Beni-Abbès, Algérie), MNHN 1951.328 (Environs de Djanet, Algérie) et trois spécimens de la collection du Laboratoire de Biologie et Ecologie des Vertébrés (BEV) de l'Université de Montpellier II : BEV 957 (Aouinet-Torkoz, Djebel Ouarkiz, Maroc), BEV 958 (Amotte, Djebel Ouarkiz, Maroc), BEV 959 (pas de localité, Maroc).

### **1. Description**

Longueur totale (LT): 192-285 mm (moyenne : 240,3 mm) sur 6 spécimens entiers. Longueur de la queue (LQ): 13-19 mm (moyenne : 15,9 mm) sur 6 spécimens entiers. Diamètre du corps (DC): 1,0-1,9 mm (moyenne : 1,4 mm). Rapport LT/LQ: 13,7-16,5 (moyenne : 15,1). Rapport LT/DC: 145-196.

En vue latérale, le museau est fortement recourbé vers le bas et présente une extrémité pointue (Fig. 4). Le nombre d'écailles longitudinales varie de 490 à 569 et celui d'écailles sous-caudales de 41 à 47.

### **2. Commentaires**

Ces sept spécimens d'Algérie, du Maroc et du Niger sont remarquables par la forme très particulière de leur museau, leur corps très grêle et le grand nombre d'écailles longitudinales et de sous-caudales. Cet ensemble de caractères est clairement incompatible avec l'appartenance à l'une des formes connues de *Leptotyphlopidae* d'autres régions du monde, y compris celles du groupe *macrorhynchus* (voir notamment Hahn 1978 et Hahn & Wallach 1998). En revanche, la forme du museau est très évocatrice du dessin de Jacquet (1896) qui illustre la description de *Glauconia algeriensis* des environs de Biskra en Algérie (Fig. 5). De plus, la description détaillée du type de Jacquet et ses mensurations (LT : 280 mm, LQ : 19 mm, DC : 2 mm, rapport LT/LQ: 14,7, rapport LT/DC: 140) sont similaires aux exemplaires de notre série.

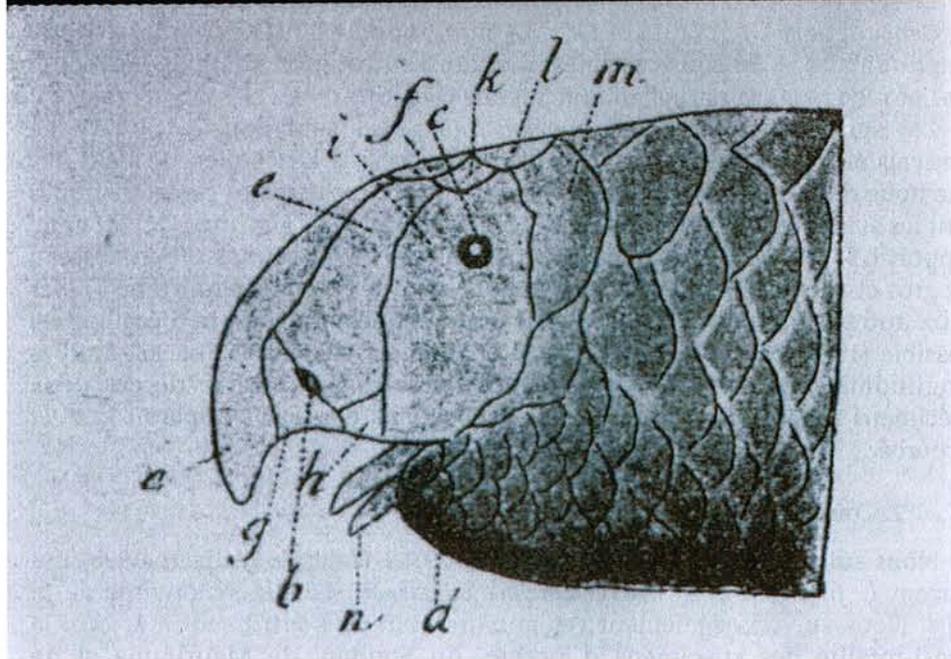


Figure 4. Photographie de la tête de *Leptotyphlops algeriensis* en vue latérale. MNHN 8648, Beni-Abbès, Algérie.

Figure 5. Schéma de Jacquet (1896) illustrant la description du type de *Glauconia algeriensis* des environs de Biskra, Algérie.

### C. *Leptotyphlops cairi* (Duméril & Bibron, 1844)

1844 *Stenostoma cairi* Duméril et Bibron, *Erpét. Gén* 6 : 323. Localité-type : Le Caire, Egypte. Holotype : MNHN 3231.

1861 *Stenostoma fitzingeri* Jan, *Arch. Zool. Anat. Fisiol.* 1 : 189. Localité-type : " Ile de Rhodes " (près du Caire), Egypte.

1928 *Glauconia braccianii* Scortecci, *Atti Soc. Ital. Sci. Nat. Milano* 67 : 294, fig. Localité-type : Adi Ugri, Erythrée.

1928 *Glauconia variabilis* Scortecci, *Atti Soc. Ital. Sci. Nat. Milano* 67 : 295, fig. Localité-type : Adi Ugri, Erythrée.

1936 *Leptotyphlops macrorhynchus bilmaensis* Angel, *Bull. Soc. Zool. France* 61 : 274. Localité-type : Oasis de Bilma, Niger.

1998 *Leptotyphlops cairi* - Hahn & Wallach, *Hamadryad*, 23 : 56.

Spécimens examinés : MNHN 3231 (Holotype), Le Caire, Egypte ; MNHN 1936.100 (Lectotype de *Leptotyphlops macrorhynchus bilmaensis*), MNHN 1936.99, 1936.101-102, 1991.3157, 1991.3160-3162 (Syntypes de *Leptotyphlops macrorhynchus bilmaensis*), Bilma, Niger.

#### 1. Description

Le type de *L. cairi* présente les caractéristiques suivantes : LT 241 mm, LQ 16 mm, rapport LT/LQ 15,0, DC 3,4 mm, rapport LT/DC 70, 361 écailles longitudinales et 36 sous-caudales. Son museau est gros et allongé, avec un discret relief sous la narine en vue latérale (Fig. 6).

Les syntypes de *L. macrorhynchus bilmaensis* sont pour la plupart en mauvais état (plus ou moins fortement desséchés), à l'exception de 1936.100, que nous désignons ici comme lectotype, dont les principales caractéristiques sont les suivantes : LT 176 mm, LQ 13 mm, rapport LT/LQ 13,5, DC 2,6 mm, rapport LT/DC 68, 334 écailles longitudinales, 32 sous-caudales. Son museau est gros et allongé, et apparaît légèrement recourbé en vue latérale (Fig. 7). Les deux autres syntypes de *L. bilmaensis* pour lesquels un compte d'écailles est possible (1936.101 et 1936.102) présentent respectivement 363 et 362 écailles longitudinales et 31 et 34 écailles sous-caudales. Le museau de ces deux spécimens ainsi que celui de tous les spécimens desséchés apparaît gros et recourbé.

#### 2. Commentaires

Nous suivons Hahn & Roux-Estève (1979) et Hahn & Wallach (1998) qui placent *L. fitzingeri* et *L. macrorhynchus bilmaensis* dans la synonymie de *L. cairi*. Nous suivons également ces auteurs quand ils attribuent à *L. cairi* la quasi-totalité des spécimens d'Egypte, du Soudan, de Mauritanie et de Somalie qu'ils ont examiné. Nous suivons Roux-Estève (*in litteris*) qui place dans la synonymie de *L. cairi* les types de Scortecci *Glauconia braccianii* et *G. variabilis*. *G. variabilis* avait déjà été placé dans la synonymie de *L. cairi* par Hahn (1980) et *G. braccianii* dans celle de *L. macrorhynchus* par Hahn (1978).

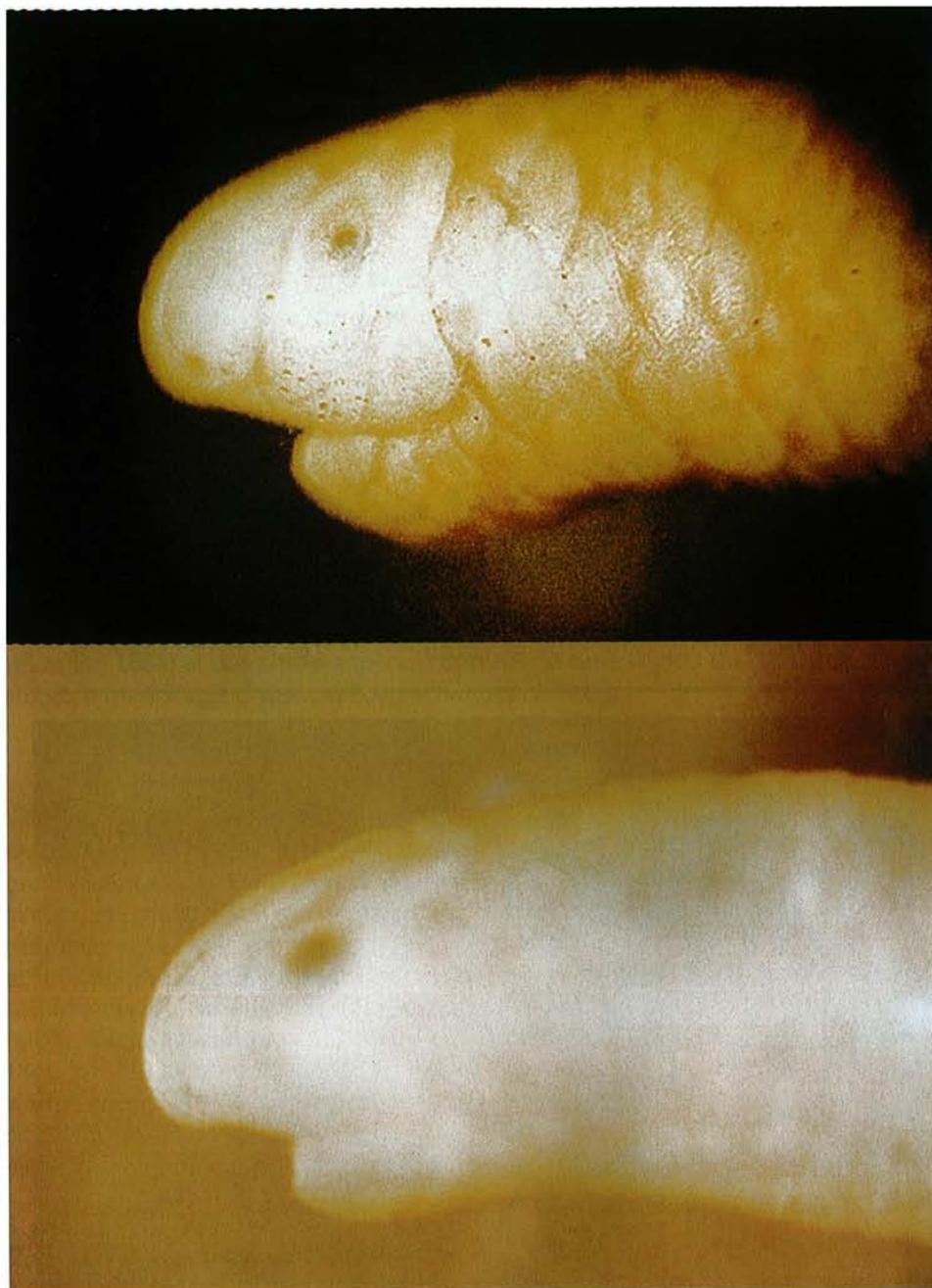


Figure 6. Photographie de la tête de l'holotype de *Leptotyphlops cairi* en vue latérale. MNHN 3231, Le Caire, Egypte.

Figure 7. Photographie de la tête du syntype de *Leptotyphlops macrorhynchus bilmaensis* en vue latérale. MNHN 1936.100, Bilma, Niger.

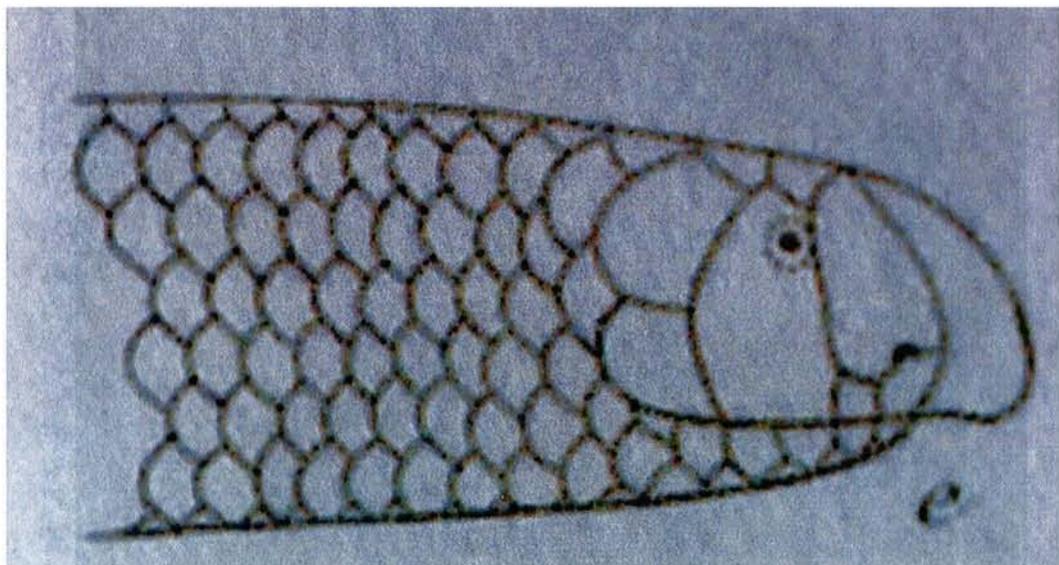


Figure 8. Schéma de Jan (1860) illustrant sa description du type de *L. macrorhynchus* de Sennar, Soudan.



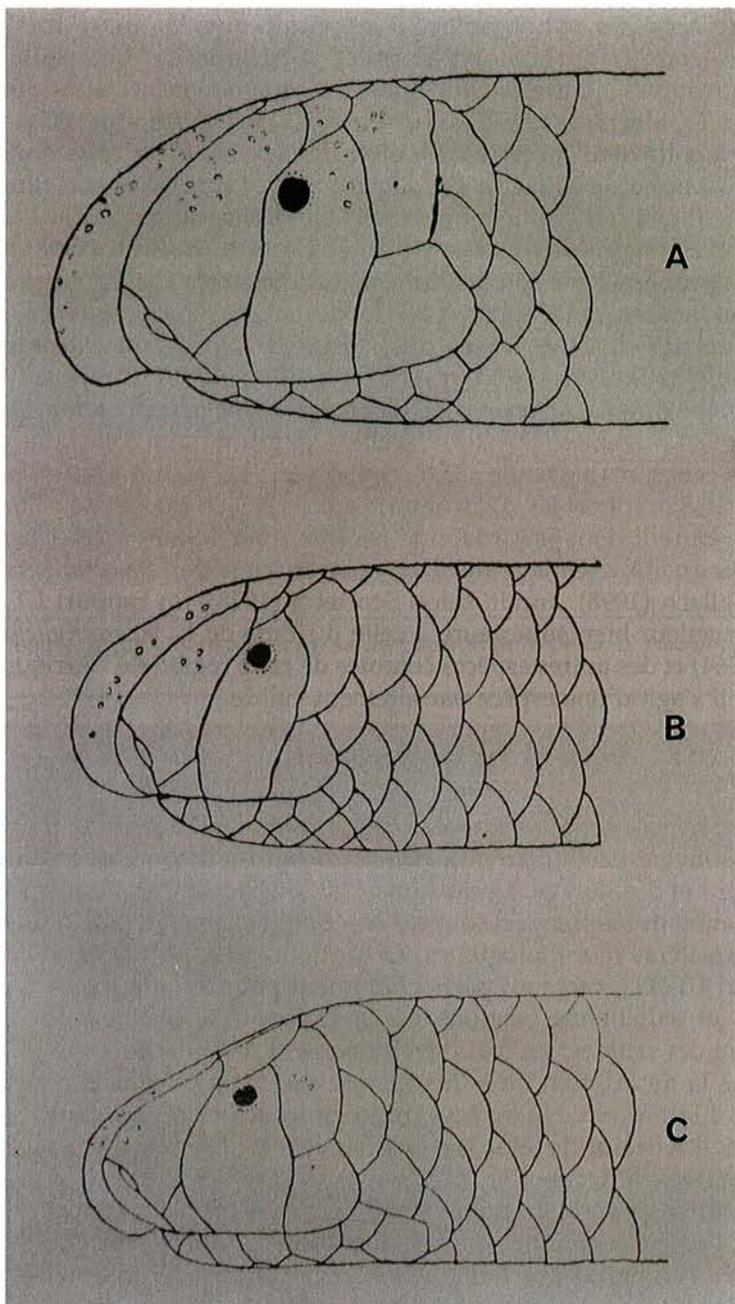
Figure 9. Photographie de la tête de *Leptotyphlops hamulirostris* en vue latérale. MNHN 1904.550, "Perse" = Iran.

Si on accepte ces synonymies, il apparaît que la quasi totalité des exemplaires connus de *Leptotyphlopids* d'Afrique à " bec saillant " ou " museau recourbé ", autrefois attribués à *L. macrorhynchus*, sont désormais rattachés à *L. algeriensis*, à *L. adleri* ou à *L. cairi*. Le statut même de *L. macrorhynchus* devient incertain. En effet, le type de cette espèce, autrefois conservé au Musée de Milan, a été détruit. Sa description et son illustration par Jan (Fig. 8) montrent qu'il entre dans la variabilité des spécimens attribués à *L. cairi* par Hahn & Roux-Estève (1979) et Hahn & Wallach (1998). C'est le cas pour ses proportions et son écaillage céphalique, mais aussi pour la fameuse forme de son museau, qui n'apparaît que modestement recourbée, ceci surtout en comparaison de *L. algeriensis* d'Afrique du Nord, mais aussi de *L. hamulirostris* (Nikolski, 1907) d'Asie (Fig. 9). Selon Hahn & Wallach (1998), les spécimens africains de *L. macrorhynchus* présenteraient les caractéristiques suivantes : 307 à 329 écailles longitudinales (moyenne : 316,3), 26 à 42 sous-caudales (moyenne : 35,0), rapport LT/LQ compris entre 7,9 et 13,7 (moyenne : 10,8), rapport LT/DC compris entre 49 et 66 (moyenne : 57). Toutes ces valeurs entrent dans la variabilité connue pour *L. cairi* ou *L. adleri*. Il est aussi à noter que *G. erythraea*, mis dans la synonymie de *L. macrorhynchus* par Hahn & Wallach (1998), aurait, selon Scortecchi (1928), un rapport LT/LQ de 19, soit une valeur bien supérieure à celle du type de *L. macrorhynchus* (11,5 selon Jan 1864) et des autres espèces connues de cette région de l'Afrique, ce qui suggère qu'il s'agit d'une espèce parfaitement valide.

### III. DISCUSSION

Les *Leptotyphlops* sont des serpents de très petite taille, dont le contour des écailles est souvent peu apparent même en disposant de bonnes conditions de grossissement et d'éclairage. Leur examen est long et délicat. Pour ces raisons, la détermination des espèces est souvent basée sur l'examen rapide d'un nombre limité de caractères morphologiques, en particulier l'aspect général de la tête et le rapport LT/LQ, ceci tout particulièrement pour les spécimens d'Afrique saharienne et sahélienne, régions où la diversité spécifique apparaissait faible. Parmi ces critères, un fort développement du museau a été utilisé dès 1860 lors de la description de *L. macrorhynchus*, mais ce caractère peut aussi s'appliquer à la plupart des espèces des régions arides ou semi-arides d'Asie occidentale, d'Afrique du Nord et d'Afrique de l'Est, ainsi qu'à plusieurs espèces de savane africaine (Fig. 10).

La répartition géographique de *L. adleri* reste à préciser. *L. macrorhynchus* a plusieurs fois été mentionné en savane d'Afrique de l'Ouest (Villiers 1975, Roman 1980, Hughes 1983, Hahn & Wallach 1998) et la variabilité attribuée à *L. macrorhynchus* en Afrique par Hahn & Wallach (1998) montre clairement qu'un ou plusieurs spécimens de *L. adleri* étaient présents parmi ceux étudiés. Dans le cas du Sénégal, où la présence de *L. macrorhynchus* est parfois citée depuis qu'un spécimen de Sambaïlo (Guinée, à la frontière du Sénégal, en bordure du parc national du Niokolo-Koba) a été attribué à tort à cette espèce par Villiers (1956), il s'agissait en fait de *Rhinoleptus koniaguï*.



**Figure 10.** Schémas de Scortecci (1928) illustrant la description des types de (A) *L. erythraeus*, de Massawa, Erythrée, et de (B) *L. bracciani* et (C) *L. variabilis*, d'Adi Ugri, Erythrée.

Dans le cas de *L. algeriensis*, les données de la littérature suggèrent que cette espèce est répartie des marges présahariennes du Maroc, où dix localités sont actuellement connues (Bons & Geniez 1996), au sud tunisien (Domergue 1959) et du nord du Mali (Hahn & Wallach 1998) au nord-est du Niger. La répartition de *L. cairi* apparaît encore plus vaste, depuis la Mauritanie (Hahn & Wallach 1998) jusqu'à l'Égypte et l'Érythrée.

La validité de *L. macrorhynchus* apparaît désormais un peu incertaine, ce qui est paradoxal pour le plus célèbre taxon de ce genre, dont l'aire de répartition classique allait du Maroc au Pakistan, et dont le nom correspondait si bien à la morphologie des spécimens rencontrés dans cette vaste région du monde. Seules de nouvelles collectes dans la région de Sennar au Soudan pourraient permettre de savoir si le type de Jan représentait bien une espèce nouvelle "à bec saillant". Même si c'est le cas, sa répartition devrait être sensiblement plus restreinte que celle jusqu'à présent classiquement accordée à cette espèce.

**Remerciements.** Nous adressons nos vifs remerciements à Madame Roux-Estève pour nous avoir remis sa documentation personnelle sur les Leptotyphlopidés, avec en particulier les manuscrits successifs de son travail inachevé en collaboration avec D.E. Hahn et l'abondante correspondance (plus de 20 lettres) échangée à cette occasion entre 1977 et 1979. Nos remerciements s'adressent également à Ivan Ineich pour d'utiles discussions sur ce manuscrit et le prêt des spécimens MNHN et à Philippe Geniez pour nous avoir prêté les exemplaires de *L. algeriensis* du Maroc qui sont déposés dans la collection du laboratoire de Biogéographie et Ecologie des Vertébrés de l'EPHE à Montpellier (collection BEV). Nous sommes fortement redevables à Bernard Geoffroy et à Michel Dukhan (IRD, Montpellier) pour l'illustration photographique de cet article.

#### IV. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bons J. & Geniez P. 1996 - Amphibiens et Reptiles du Maroc. Asociacion Herpetologica Espanola, Barcelona, 320p.

Broadley D.G. & Watson G. 1976 - A revision of the worm snakes of southeastern Africa (*Serpentes: Leptotyphlopidae*). *Occ. Pap. Natn. Mus. Rhodesia*, B5 (8) : 465-510.

Domergue C. 1959 - Liste des ophidiens de Tunisie, de l'Algérie et du Maroc. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 36 : 157-161.

Hahn D.E. 1978 - A brief review of the genus *Leptotyphlops* (Reptilia, Serpentes, Leptotyphlopidae) of Asia, with description of a new species. *J. Herp.*, 12 : 477-489.

Hahn D.E. 1980 - Liste der rezenten Amphibien und Reptilien. Anomalepidae, Leptotyphlopidae, Typhlopidae. *Das Tierreich*, 101 : 1-96.

Hahn D.E. & Roux-Estève R. 1979 - Comments on the systematics of the old world members of the genus *Leptotyphlops* (Serpentes : Leptotyphlopidae). Document non publié.

Hahn D.E. & Wallach V. 1998 - Comments on the systematics of the old world members of the genus *Leptotyphlops* (Serpentes : Leptotyphlopidae), with description of a new species. *Hamadryad*, 23 : 50-62.

- Hallermann J. & Rödel M.O. 1995 - A new species of *Leptotyphlops* (Serpentes: Leptotyphlopidae) of the *longicaudus*-group from West Africa. *Stuttgarter Beitr. Naturk., Ser. A.*, 532 : 1-8.
- Hughes B. 1983 - African snake faunas. *Bonn. Zool. Beitr.*, 34 : 311-356.
- Jan G. 1860 - Iconographie générale des ophidiens. Première livraison, planche VI, fig. 12-e. Milan et Paris.
- Jan G. 1864 - Iconographie générale des ophidiens. Première famille: Les Typhlopiens. Milan et Paris, 39-40.
- Meirte D. 1992 - Clés de détermination des serpents d'Afrique. *Annls. Mus. Roy. Afr. Centr., Sci. Zool.*, 267 : 1-152.
- Roux-Estève R. 1979 - Une nouvelle espèce de *Leptotyphlops* (Serpentes) du Cameroun: *Leptotyphlops perreti*. *Revue suisse Zool.*, 86 : 463-466.
- Scortecchi G. 1928. - Rettili dell'Eritrea esistenti nelle collezioni del Museo Civico di Milano. *Atti Soc. Ital. Sci. Nat. Milano*, 67 : 290-338.
- Trape J.F & Mane Y. 2000 - Les serpents des environs de Dielmo (Sine-Saloum, Sénégal). *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 95 : 19-35.
- Villiers A. 1956 - V. Reptiles. In: Le parc National du Niokolo Koba. IFAN, Mémoire n°48, Dakar, pp 150-162.
- Villiers A. 1975 - Les Serpents de l'Ouest Africain. IFAN, Initiations et Etudes Africaines n°2, 3<sup>e</sup> éd., Dakar, 195p.
- Wallach V & Hahn D.E. 1998 - *Leptotyphlops broadleyi*, a new species of worm snake from Côte d'Ivoire (Serpentes : Leptotyphlopidae). *African J. Herpetol.* 46 : 103-109.

*Manuscrit accepté le 23 octobre 2002*

## ANALYSE D'OUVRAGE

**Die Äskulapnatter *Elaphe longissima* – Verbreitung und Lebensweise in Mitteleuropa** par Axel GOMILLE – 2002 . Chimaira , Frankfurt am Main . 158 pages, 73 photos en couleur et 6 en noir et blanc, 3 illustrations historiques, 9 graphiques, 5 cartes et 17 tableaux. 27,80 Euros. L'ouvrage contient une bibliographique complète de 198 références, aussi bien générales que spécifiques.

Axel GOMILLE a étudié *Elaphe longissima* en Allemagne, dans l'Odenwald, en particulier dans le cadre d'un diplôme de biologie, soutenu en 1999. Sa profession de photographe transparaît dans la qualité de l'iconographie de l'ouvrage. L'essentiel des photos concerne la Couleuvre d'Esculape elle-même, ainsi que son milieu de vie. Cependant, on y trouve également des photographies des autres reptiles rencontrés dans les mêmes endroits que la Couleuvre d'Esculape.

La répartition et l'écologie de la Couleuvre d'Esculape sont traitées dans deux grands chapitres : tout d'abord en Allemagne, dans l'Odenwald, puis plus généralement dans le centre de l'Europe. Ce livre est une véritable monographie de la Couleuvre d'Esculape en Europe centrale.

Selon l'auteur c'est une espèce forestière qui a besoin d'un climat modérément humide qui ne tolère pas les conditions de sécheresse. Ainsi, la répartition de la Couleuvre d'Esculape correspond aux zones forestières à climat océanique. Lorsque la température de l'air est inférieure à 16° ou supérieure à 25° les chances d'observer la Couleuvre d'Esculape sont faibles. L'habitat forestier naturel joue probablement un rôle essentiel dans la reproduction et l'hivernage de cette espèce.

La limite septentrionale de la Couleuvre d'Esculape, en Europe centrale, semble être déterminée par la température. Les populations isolées au Nord de cette ligne se situent sur les versants des vallées fluviales exposés au sud, qui constituent probablement un microclimat favorable. La découverte récente de fossiles plus nordiques montre que ces populations isolées sont autochtones et constituent les reliques d'une plus vaste distribution de l'espèce en Europe centrale. L'auteur rejette l'hypothèse de l'introduction par les Romains. Le refroidissement depuis la période Atlantique est la cause de la régression de l'aire de répartition de la Couleuvre d'Esculape, régression qui continue encore de nos jours. Ainsi, au cours des 150 dernières années, 5 populations isolées nordiques se sont éteintes.

La plus grande Couleuvre capturée est un mâle de 184 cm pesant 890 g. En Allemagne, dans le Neckar- Odenwald la couleuvre d'Esculape dépasse 428 m d'altitude.

Malheureusement l'ouvrage est en allemand. Cependant, toutes les légendes des figures et des tableaux sont bilingues (allemand - anglais). De plus, le livre se termine par un résumé en anglais bien développé (4 pages et demie).

Ces parties en anglais permettent, malgré tout, une bonne compréhension du contenu de l'ouvrage. Mais la compréhension de certains tableaux et de certaines figures, malgré la légende en anglais, n'est pas évidente du fait des termes uniquement en allemand qui y sont inclus. Cet ouvrage de qualité, tant sur le fond que sur la forme, s'adresse à toutes personnes s'intéressant à la Couleuvre d'Esculape.

**Guy NAULLEAU**  
C.N.R.S. – C.E.B.C.  
79360 VILLIERS EN BOIS  
e-mail : [g\\_naull@club-internet.fr](mailto:g_naull@club-internet.fr)

# Société Herpétologique de France

Association fondée en 1971, agréée par le Ministère de l'Environnement le 23 février 1978

**Siège social:** Université de Paris VII, Laboratoire d'Anatomie Comparée,  
2, place Jussieu, 75251 PARIS Cedex 05

## CONSEIL D'ADMINISTRATION (2001-2002)

**Président :** Claude PIEAU, Institut Jacques Monod, Département Biologie du Développement  
2, place Jussieu, Tour 43, 75251 PARIS cédex 05

**Vice-Présidents :** Claude MIAUD, Université de Savoie, UFR Centre Interdisciplinaire Scientifique de  
la Montagne, UMR CNRS 5553, Laboratoire de Biologie des Populations d'Altitude,  
73376 LE BOURGET DU LAC

Thierry FRETEY, Laboratoire d'Evolution des Systèmes Naturels et Modifiés, Université  
de Rennes I, avenue du Général Leclerc, 35042 RENNES Cedex

**Secrétaire générale :** Michelle GARAUDEL, Impasse de l'Eglise, 35450 MECE

**Secrétaire adjoint :** Franck PAYSANT, 1, rue Jean Brulelou, 35700 RENNES

**Trésorier :** Frédéric TARDY, Réserve Africaine, 11130 SIGEAN

**Trésorier adjoint :** Francis MULLER, 2, rue de Champagne, 54470 PANNES

**Autres membres du conseil :** Bernard LE GARFF, Roland SIMON, Roland VERNET, Alain VEYSSET

**Membres d'honneur :** Guy NAULLEAU (Cebas/CNRS, 79360 CHIZE),

Gilbert MATZ (Fac. Sciences, 49045 ANGERS),

## ADRESSES UTILES

**Responsable de la rédaction:** Claude MIAUD, Université de Savoie, UFR Centre Interdisciplinaire  
Scientifique de la Montagne, UMR CNRS 5553, Laboratoire de Biologie des Populations d'Altitude,  
73376 LE BOURGET DU LAC

**Responsable de la Commission de Répartition :** J. LESCURE, Laboratoire Amphibiens-Reptiles,  
Muséum National d'Histoire Naturelle, 25, rue Cuvier, 75005 PARIS

**Responsable de la Commission de Protection :** F. MULLER, 12, rue de Champagne 54470 PANNES  
<enffmu@infonie.fr>

**Responsable de la Commission de Terrariophilie :** R. SIMON, 12, rue Q.M. Bondon,  
29470 PLOUGASTEL DAOULAS

**Responsable du Groupe de Paléo-herpétologie :** J.-M. MAZIN, Laboratoire de Géobiologie, CNRS  
EP1596, Université de Poitiers, 40 avenue du recteur Pineau, 86022 POITIERS cédex

**Responsable du groupe Cistude :** A. VEYSSET, 3, rue Archimède, 91420 MORANGIS -  
<emys@aol.com>

**Responsable du groupe venins :** M. LIANO, 1101, rue de Nointel Autreville, Breuil-Le-Sec  
60600 CLERMONT

**Responsable du Groupe Pathologie et Soins:** D. BOUSSARIE, 118 avenue Pierre Mendès-France  
02000 LAON

**Responsable de la circulaire d'annonces:** J. ANDRE, 8, rue Paul Gauguin, 77550 MOISSY  
CRAMAYEL

**Responsable des archives et de la bibliothèque :** G. MATZ, Université d'Angers, Laboratoire de  
Biologie animale, 2 boulevard Lavoisier, 49045 ANGERS Cedex

**Responsable du Club Junior :** F. SERRE-COLLET, 35, rue Edouard Vaillant, 94140 ALFORTVILLE Site  
Internet: <http://SHF.JUNIOR.FREE.FR> ; e-mail <shf.junior@wanadoo.fr>

**Responsable du Groupe Communication-Information :** Y. DURKEL, Résidence Bellevue,  
63 boulevard de las Planas, 06100 NICE - <ivan.durkel@wanadoo.fr>

**Site internet :** <http://www.societeherpetologiquedefrance.asso.fr>

**ADMISSIONS:** Les admissions à la S.H.F. sont décidées par le Conseil d'Administration sur proposition  
de deux membres de la Société (art. 3 des statuts). N'envoyez votre cotisation au secrétaire général  
qu'après avoir reçu l'avis d'admission du conseil.

## COTISATIONS 2003/ MEMBERSHIPS

Tarifs (France, Europe, Afrique)	Taux annuel		Bulletin	Total
. adhérents de moins de 25 ans	15,5	+	16	= 31,5 Euros
. adhérents de plus de 25 ans	20	+	20	= 40,0 Euros
. bienfaiteurs : minimum				= 60,0 Euros
. membre conjoint				= 23,5 Euros
. club junior				= 19 Euros
<b>Tarifs (Amérique, Asie, Océanie)</b>	31	+	31	= 62 US\$

Le service de la revue est assuré aux membres à jour de la cotisation.

**Modalités de paiement:** 1. Chèque postal à l'ordre de la SHF, CCP 3796-24 R PARIS; 2. Chèque  
bancaire à l'ordre de la SHF : envoi direct au secrétaire général (adresse ci-dessus);

